



Eco-extraction par micro-ondes couplée à un champ centrifuge

Alice Angoy

► **To cite this version:**

Alice Angoy. Eco-extraction par micro-ondes couplée à un champ centrifuge. Biotechnologies. Université d'Avignon, 2019. Français. NNT : 2019AVIG0274 . tel-02535589

HAL Id: tel-02535589

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02535589>

Submitted on 7 Apr 2020

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.

THÈSE

Présentée pour obtenir le grade de Docteur en Sciences
de l'Université d'Avignon

SPÉCIALITÉ : CHIMIE

Éco-extraction par micro-ondes couplée à un champ centrifuge

par

Alice ANGOY

Le vendredi 13 décembre 2019

Directeurs de thèse : **Prof. Farid CHEMAT** et **Dir de R. Catherine CARIS-VEYRAT**
Co-encadrant : **Dr. Marc VALAT**

Composition du jury :

Mme Martine POUX	Ingénieur de recherche HDR, ENSIACET Toulouse, France	Rapporteur
M. Pierre CHALARD	Professeur, SIGMA CLERMONT, Clermont-Ferrand, France	Rapporteur
M. Eugène VOROBIEV	Professeur, UTC Compiègne, France	Examineur
M. Farid CHEMAT	Professeur, Université d'Avignon, France	Directeur de thèse
Mme Pascale GOUPY	Ingénieur d'Étude, INRA PACA, France	Examineur
M. Marc VALAT	Maître de conférence, I2M, Université de Bordeaux 1, France	Co- encadrant
M. Pascal GINISTY	Ingénieur de recherche, IFTS, Foulayronnes, France	Invité

REMERCIEMENTS

Voici venu le temps des remerciements pour toutes les personnes qui ont contribuées de près ou de loin à ce travail de trois ans. Trois ans, qui peuvent parfois paraître si longs mais qui passent réellement vite. Trois ans pas simples mais dont je ne tirerai que le meilleur.

Ma première pensée se dirige à Catherine Caris-Veyrat, ma directrice de thèse qui nous a quittés en ce début d'année 2019 après un long combat contre la maladie. Je ne pourrai pas achever cette thèse avec elle mais elle m'a toujours encouragée et félicitée. De plus, elle a fait en sorte de me laisser entre de bonnes mains, bienveillantes et disponibles, merci Catherine.

Je remercie Vincent Edery, directeur général de l'IFTS de m'avoir donné l'opportunité d'effectuer cette thèse et Pascal Ginisty, directeur scientifique de l'IFTS et mon encadrant industriel, pour ces trois années et ses conseils.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements aux Dr-ing. Martine Poux et Pr. Pierre Chalard pour avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse et pour leur temps consacré à l'évaluation de ce manuscrit. Je remercie également le Pr. Eugène Vorobiev pour me faire l'honneur de juger ce travail de thèse et de participer à ce jury.

Mes vives remerciements se dirige ensuite vers mes encadrants :

- tout d'abord à mon directeur de thèse, Farid Chemat, sans qui je n'aurais pas postulé à cette thèse. Je vous remercie de m'avoir guidée et suivie pendant ce travail. A vos côtés, j'ai appris à réaliser un travail de recherche. Je vous remercie pour votre disponibilité, votre confiance et vos encouragements pendant ces trois ans, et bien sûr, pour vos qualités humaines. Vous avez su, plusieurs fois, me remotiver et m'aider à venir à bout de cette thèse.

- à Pascale Goupy, pour son aide et son soutien constant et si présent. Tu as été de précieux conseils, d'une grande disponibilité, tu as fait preuve de pédagogie, de patience, de compréhension, de générosité... Tu as été présente pour moi, également, dans des périodes difficiles, et tu as toujours trouvé les bons mots pour me redonner le moral et le sourire. Merci pour ton efficacité et pour m'avoir transmis ta rigueur scientifique. Je suis vraiment chanceuse de t'avoir eue à mes côtés. Merci pour tout.

- et à Marc Valat, pour son œil d'analyste et son écoute. J'ai pu apprécier tes compétences professionnelles ainsi que tes qualités humaines. Tu m'as appris beaucoup sur le côté scientifique mais pas que, également, sur le côté personnel, à mieux gérer mes émotions, parfois virulentes et à analyser les situations pour trouver des solutions. Merci pour ton oreille attentive, merci pour ta présence durant ces trois années.

Je remercie l'équipe MicroNut, en particulier Christian Giniès, mon expert préféré en huiles essentielles, cela a été un réel plaisir de travailler avec toi, merci pour ta pédagogie, disponibilité et bonne humeur. Merci à Claire Dufour pour m'avoir également suivie durant cette thèse et pour ses messages positifs pour m'encourager et me redonner de la force. Merci

à Béatrice Gleize pour son aide et son esprit d'analyse. Et enfin merci à Marie-José. Je remercie également Frédéric Carlin, directeur de de l'UMR408.

Je remercie Isabelle Bornard, pour tout son travail concernant la microcopie, j'ai vraiment apprécié de travailler avec elle.

Je tiens maintenant à remercier les personnes avec qui j'ai pu échanger et discuter sur mes problématiques scientifiques et qui ont toujours été disponibles, Alain Sommier de l'I2M, François Chabrier et Sylène Brianceau de Agrotec. Un merci également à Muriel Bore, comptable de l'I2M.

Je tiens à remercier tous mes collègues de l'IFTS au sein duquel j'ai effectué la quasi-totalité de ma thèse : Julien Beaulieu et Mickaël Geslot ; techniciens CEOPS pour m'avoir très bien accueillie, et leur aide pour mes montages et formation sur les appareils du laboratoire, merci pour leur bonne humeur également. Je remercie Vincent Belfio pour toute l'aide qu'il m'a apportée sur le pilote, ses connaissances en mécanique et nos échanges sur mon travail de recherche. Merci à Arthur qui a toujours réussi à solutionner les problèmes labview et autres et qui est d'une grande efficacité. J'ai apprécié travailler avec vous. Merci à Iheb mon collègue doctorant de l'IFTS. Un merci général pour tous mes collègues pour votre soutien durant ces trois années, je ne vais pas tous vous citer mais vous vous reconnaitrez.

Un gracias especial a René Peinador, mon collègue de bureau, mon ami. Deux ans et demi, tu te rends compte ? Merci pour avoir été présent au quotidien pendant ces années, merci pour ton appui scientifique et tes graffitis de chercheur fou sur notre tableau blanc. Merci pour avoir toujours été à l'écoute, pour avoir toujours été présent à essayer de solutionner mes problèmes pro ou perso. Merci pour ta bonne humeur, pour ton humour.

Un otro gracias especial a Xabier Apaolaza pour m'avoir aidée dès qu'il le pouvait au niveau de notre « bébé » : le pilote. Merci pour nos discussions lors des congrès qui m'ont permis d'y voir plus clair dans mon travail et dans la présentation de mes résultats.

Un merci à toute l'équipe Green : Manu, Sandrine, Anne-Sylvie, Njara, Maryline, Karine et Julien. Merci à mes copains doctorants, post-doc ou docteurs : Léa, Vincent, Boutheina, Cass, Magalie, Clément, Anne-Gaëlle, Nat, Alice, Florian, Momo, Gaëtan et Emna.

Merci à mon super club de la terre entière l'Asptt Agen Athlétisme, vous êtes tous trop géniaux. Merci à Bastien pour ses « vous êtes merveilleuses les filles » 10 fois par séance et à ma super Popo pour tout ce qu'elle m'a appris, t'es la plus forte !

Un grand merci à mon coloc Alexis, deux ans et demi à me supporter, tu en as du courage ! Merci pour ton soutien et ta présence pendant cette thèse, tes encouragements et tes blagues (pourries =)). T'es quand même le meilleur Coloc, tu le sais ! Merci à mes voisins et copains Claire et Thibaut. Merci également à tous mes copains de la résidence.

Merci à tous mes amis de Chimie Clermont : mon Club Salade, Paulo, Fabien et ma Noguera. Merci à mes copines aveyronnaises de nos années d'internat. Merci à Emeric d'avoir toujours

été disponible pour moi et d'être présent malgré la distance. Merci à Manon ma « coloc » d'Avignon et copine de thèse. Merci à mon Apo, copine de thèse également.

Un remerciement particulier à Caroline Makerri, qui, finalement, a vécu ma thèse au jour le jour, une présence quotidienne sans faille. Un réel appui, des analyses et des visions positives qui m'ont permis d'aboutir ce travail. Tu m'as fait grandir Docteur Makerri. Tellement de chance de t'avoir rencontrée au Green, merci pour tout ma super chef, bon ok, ma collaboratrice !

Merci à ma super copine, Laure Tisseyre, qui a su toujours prendre soin de moi. Merci pour cette belle amitié et puis nos découvertes des pays en sac à dos sont loin d'être terminées, binôme de voyage.

Merci à ma Titoune pour tout son soutien ses encouragements, sa gentillesse et sa présence pendant ces trois ans. Merci à ma Néna, à Fifi, à Domi, les liens que nous avons sont si précieux.

Gracias a todos mis Castejoneros : a mis Popus, las mejores ! Gracias a mi familia, y en particular a: Carlos (mi padre español), Gema, Lidia y Carlito. Gracias a mi pueblito Castejón de Valdejasa.

Puis enfin, merci à ma famille, et en particulier, à mes parents, Françoise et Yves, je vous aime tellement, merci de m'avoir épaulée au jour le jour. Merci à ma sœur Nina, ma vie, toujours là pour moi, et d'une patience incroyable. Merci à mon frère Joan qui n'est pas fini (=D), mais que j'aime quand même. J'ai vraiment de la chance d'avoir une famille si soudée et si aimante, merci à Ayanini aussi !

Sans vous, tout ça je ne pouvais pas le faire, merci à tous, cela n'a pas été simple mais voici le résultat.

« La fin d'une chose marque le commencement d'une nouvelle. »

Le Petit Prince, Antoine de Saint Exupéry

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

Participation à des congrès nationaux et internationaux

- **1^{er} Congrès International Francofilt 2017**, 29 - 31 Août 2017 - Bordeaux, France.
Communication orale : Eco-Extraction de composés phénoliques par micro-ondes et couplage à un champ centrifuge.
A. Angoy, P. Ginisty, M. Valat, F. Chemat, P. Goupy, P.N. Parent, C. Caris-Veyrat
- **Ampere 16th International Conference on Microwave and High Frequency Heating**, 18 - 21 Septembre 2017 – Delft, Pays-Bas.
Communication orale : Green extraction using microwave and centrifugal force: a new technique for extraction of natural products
A. Angoy, P. Ginisty, M. Valat, F. Chemat, P. Goupy C. Caris-Veyrat
- **WAS 2017: International Workshop On Alternative Solvents**, 28 - 29 Septembre 2017– Lyon, France. Communication écrite (poster) : Green extraction using microwave and centrifugal force: a new technique for extraction of natural products
A. Angoy, P. Ginisty, M. Valat, F. Chemat, P. Goupy C. Caris-Veyrat
- **Filtech 2018**, 12 - 15 Mars 2018 – Cologne, Allemagne.
Communication orale : Green extraction using microwave and centrifugal force: extraction of natural products.
A. Angoy, P. Ginisty, M. Valat,
- **FPS 2018 Fluid-Particle Separation Conference**, 15 - 17 Octobre 2018 – Lyon, France.
Communication orale : Green extraction of essential oils using microwave and centrifugal force
A. Angoy, M. Valat, C. Giniès, P. Goupy, P. Ginisty, A. Sommier, C. Caris-Veyrat, F. Chemat
- **GENP2018 Green Extraction of Natural Products**, 11 - 12 Novembre 2018 – Bari, Italie.
Communication orale : Green extraction of natural products using microwaves and centrifugal force thanks to a semi-industrial pilot
A. Angoy, M. Valat, C. Giniès, P. Goupy, P. Ginisty, A. Sommier, C. Caris-Veyrat, F. Chemat
- **C2I 2019 8^{ème} Colloque Interdisciplinaire en Instrumentation**, 28 - 29 Janvier 2019 – Talence, France.
Communication orale : Adaptation et modification d'un pilote instrumenté semi-industriel combinant chauffage micro-ondes et centrifugation pour extraire des végétaux.
A. Angoy, A. Sommier, M. Valat, P. Ginisty, P. Goupy, C. Caris-Veyrat, F. Chemat

- **2^{ème} Congrès International Francofilt 2019**, 23 - 25 Septembre 2019 – Hammamet, Tunisie.

Communication orale : Eco-extraction de matières végétales par micro-ondes et centrifugation

A. Angoy, M. Valat, P. Goupy, P. Ginisty, A. Sommier, C. Caris-Veyrat, F. Chemat

Présentation en préparation

- 13th World Filtration Congress : 20 - 24 Avril 2020 – San Diego, Etats-Unis.

Communication orale : Innovative combination of microwaves with centrifugal forces for natural products extraction

P. Ginisty, M Valat, **A. Angoy**, P. Goupy, C. Ginies, A. Sommier, C. Caris-Veyrat, F. Chemat.

Distinction :

- **Obtention du prix « Excellent Student Presentation » suite à la communication orale au congrès Ampere, 16^{ième} édition du 18 au 21 septembre 2017 à Delft, Pays bas.**

Green extraction using microwave and centrifugal force: a new technique for extraction of natural products

A. Angoy, P. Ginisty, M. Valat, F. Chemat, P. Goupy, C. Caris-Veyrat

Publications scientifiques à comité de lecture :

A. Angoy, M. Valat, P. Ginisty, A. Sommier, P. Goupy, C. Caris-Veyrat, and F. Chemat. (2018). Development of microwave-assisted dynamic extraction by combination with centrifugal force for polyphenols extraction from lettuce. LWT, 98, 283-290.

Chapitre de livre :

Green Food Processing Techniques – 1st Edition - *Preservation, Transformation and Extraction*; ELSEVIER ; Editors: Farid Chemat, Eugene Vorobiev ; Paperback ISBN: 9780128153536 ; Published date: 27th July 2019 ; Page count: 586

Chapter 17: Microwave technology for food applications

A. Angoy, IFTS, Agen, France ; S. Brianceau, Agrotec, Agen, France ; F. Chabrier, Agrotec, Agen, France ; P. Ginisty, IFTS, Agen, France ; W. Jomaa, Bordeaux University, Bordeaux, France ; J-F. Rochas, Waves Concept, Lyon, France ; A. Sommier, I2M, Bordeaux, France ; M. Valat, Bordeaux University, Bordeaux, France

TABLE DES MATIÈRES

 TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION GÉNÉRALE	15
CHAPITRE I. MICROWAVE TECHNOLOGY FOR FOOD APPLICATIONS	
.....	23
I.1 INTRODUCTION: APPROACH ADOPTED IN THIS CHAPTER.....	24
I.2 PRINCIPLE, INFLUENCING FACTORS, INDUCED MECHANISMS.....	25
<i>I.2.1 Introduction</i>	<i>25</i>
<i>I.2.2 Some theoretical aspects of microwaves</i>	<i>25</i>
<i>I.2.3 An insight into the principles of dielectric heating.....</i>	<i>28</i>
<i>I.2.4 Heat and mass transfer in food processing.....</i>	<i>31</i>
<i>I.2.5 Associated metrology.....</i>	<i>32</i>
<i>I.2.6 Pro and cons of dielectric heating in food processing.....</i>	<i>33</i>
I.3 TECHNIQUES AT LABORATORY SCALE AND INDUSTRIAL SCALE.....	34
I.4 PRE AND POST PROCESSING AND COUPLING.....	34
<i>I.4.1 Pretreatment.....</i>	<i>34</i>
<i>I.4.2 Posttreatment</i>	<i>36</i>
<i>I.4.3 Coupling.....</i>	<i>37</i>
I.5 APPLICATIONS IN TRANSFORMATION, FOOD PROCESSING, AND PRESERVATION	38
<i>I.5.1 Pasteurization—Sterilization.....</i>	<i>39</i>
<i>I.5.2 Drying.....</i>	<i>42</i>
<i>I.5.3 Microwave with convective drying.....</i>	<i>44</i>
<i>I.5.4 Microwave vacuum drying</i>	<i>45</i>
<i>I.5.5 Thawing and tempering</i>	<i>45</i>
<i>I.5.6 Microwave frying.....</i>	<i>47</i>
I.6 APPLICATIONS IN EXTRACTION OF FOOD INGREDIENTS	47
<i>I.6.1 Extraction principle.....</i>	<i>47</i>
<i>I.6.2 Microwave-assisted extraction principles</i>	<i>49</i>
<i>I.6.3 Microwave-Assisted Extraction Techniques</i>	<i>51</i>
I.7 ENVIRONMENTAL IMPACT.....	55
<i>I.7.1 Introduction.....</i>	<i>55</i>
<i>I.7.2 Goal and Scope.....</i>	<i>56</i>

I.8	REGULATION AND SECURITY.....	60
1.8.1	<i>Hazard analysis and critical control points approach</i>	60
I.9	UPSCALING AND ITS APPLICATIONS IN INDUSTRY	63
I.10	FUTURE TRENDS	65
I.11	REFERENCES	66
CHAPITRE II.PRESENTATION ET ADAPTATION DU PILOTE COMBINANT MICRO-ONDES ET CENTRIFUGATION		75
II.1	INTRODUCTION	76
II.2	DIFFERENTES PHASES DE DEVELOPPEMENT DU PILOTE ESSORAGE/MICRO-ONDES	77
II.3	COMBINAISON D'EFFETS MECANIQUE ET THERMIQUE POUR LA DESHYDRATATION	80
11.3.1	<i>Aspects généraux de l'essorage</i>	80
11.3.2	<i>Chauffage par micro-ondes dans une cavité multimode</i>	83
11.3.3	<i>Intérêt du couplage mécanique et thermique</i>	85
II.4	CAHIER DES CHARGES DU PILOTE POUR L'EXTRACTION A PARTIR DE MATRICES VEGETALES	85
11.4.1	<i>Puissance micro-ondes et insertion de la matrice végétale dans le pilote</i>	86
11.4.2	<i>Application simultanée des micro-ondes et de la centrifugation</i>	87
11.4.3	<i>Collecte du liquide sortant du pilote</i>	88
11.4.4	<i>Distribution du produit dans le panier</i>	88
11.4.5	<i>Ajout d'eau pendant la manipulation</i>	89
11.4.6	<i>Manipulations à l'échelle semi-industrielle</i>	89
II.5	MODIFICATIONS ET ADAPTATIONS DU PILOTE POUR L'EXTRACTION	90
11.5.1	<i>Ajout d'un condenseur</i>	90
11.5.2	<i>Limitation des fuites de vapeur</i>	91
11.5.3	<i>Installation d'une hotte aspirante</i>	91
11.5.4	<i>Ajout d'eau en continu pendant l'extraction</i>	92
11.5.5	<i>Collecte de l'extrait</i>	93
II.6	CONCLUSION	94
II.7	REFERENCES	96
CHAPITRE III.....MATRICES VÉGÉTALES ÉTUDIÉES ET MOLÉCULES D'INTÉRÊT		97
III.1	INTRODUCTION	98

III.2	MATRICES VEGETALES ETUDIEES	98
III.2.1	<i>La salade</i>	98
III.2.2	<i>Les écorces d'oranges</i>	100
III.3	MOLECULES D'INTERET PRESENTES DANS LES MATRICES VEGETALES SELECTIONNEES POUR CETTE ETUDE	101
III.3.1	<i>Les composés phénoliques</i>	101
III.3.2	<i>Les huiles essentielles</i>	108
III.4	CONCLUSION	115
III.5	REFERENCES	116
CHAPITRE IV	MATÉRIELS ET MÉTHODES	121
IV.1	INTRODUCTION	122
IV.2	SOLVANTS ET REACTIFS	122
IV.2.1	<i>Solvants pour l'extraction</i>	122
IV.2.2	<i>Produits et standards utilisés pour les analyses</i>	122
IV.3	MATRICES VEGETALES UTILISEES	124
IV.3.1	<i>La salade</i>	124
IV.3.2	<i>Les écorces d'oranges</i>	124
IV.4	EXTRACTIONS DE REFERENCE	125
IV.4.1	<i>Extraction de référence des composés phénoliques</i>	125
IV.4.2	<i>L'hydrodistillation : méthode d'extraction de référence pour les huiles essentielles</i>	126
IV.5	EXTRACTION PAR MICRO-ONDES ET CENTRIFUGATION (MO/C).....	127
IV.5.1	<i>Présentation de l'appareillage</i>	127
IV.5.2	<i>Instrumentation du pilote</i>	129
IV.5.3	<i>Dispositifs mis en place sur le pilote pour le déroulement d'une extraction</i>	134
IV.5.4	<i>Protocole opératoire</i>	140
IV.6	EXTRACTION PAR MICRO-ONDES COMBINANT L'HYDRODIFFUSION ET LA GRAVITE (MHG)	141
IV.7	METHODES ANALYTIQUES	142
IV.7.1	<i>Teneur en matière sèche</i>	142
IV.7.2	<i>Microscope à Balayage Electronique (MEB)</i>	143

IV.7.3	<i>Analyses quantitatives et qualitatives des composés phénoliques</i>	144
IV.7.4	<i>Analyses qualitatives et quantitatives des huiles essentielles</i>	147
IV.8	REFERENCES	149
CHAPITRE V.....EXTRACTION DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES DE LA SALADE		
.....		151
V.1	INTRODUCTION	152
V.2	PRE-TESTS : COMPARAISON DES EXTRACTIONS MO/C ET MO/R	154
V.2.1	<i>Volume de liquide extrait</i>	154
V.2.2	<i>Caractérisation en composés phénoliques du liquide collecté</i>	156
V.2.3	<i>Etude de la consommation énergétique</i>	162
V.2.4	<i>Impact environnemental</i>	163
V.2.5	<i>Optimisation des paramètres d'extraction : plan d'expériences</i>	164
V.2.6	<i>Conclusion</i>	169
V.3	COMPARAISON D'UNE EXTRACTION ASSISTEE PAR MICRO-ONDES CLASSIQUE TYPE MHG ET DE L'EXTRACTION MICRO-ONDES COUPLEE A LA CENTRIFUGATION MO/C.....	171
V.3.1	<i>Etude des profils de températures</i>	171
V.3.2	<i>Rendement obtenu à partir du volume extrait</i>	174
V.3.3	<i>Couleur des extraits collectés</i>	180
V.3.4	<i>Analyse volumétrique avant et après extraction</i>	181
V.3.5	<i>Conclusion</i>	182
V.4	PROPOSITION DE MECANISME D'EXTRACTION MO/C.....	183
V.5	CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	184
V.6	REFERENCES	187
CHAPITRE VI..... EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES DES ÉCORCES D'ORANGES		
.....		189
VI.1	INTRODUCTION	190
VI.2	PRE-TESTS POUR L'EXTRACTION D'HUILES ESSENTIELLES AVEC LE PILOTE	192
VI.2.1	<i>Choix de l'injection de vapeur d'eau pendant l'extraction MO/C</i>	192
VI.2.2	<i>Choix de la configuration du pilote</i>	195
VI.3	OPTIMISATION DES PARAMETRES OPERATOIRES : PLAN D'EXPERIENCES	198
VI.4	COMPOSITION DES HUILES ESSENTIELLES.....	204

VI.5	ANALYSES DE COMPOSES PHENOLIQUES PRESENTS DANS L'EXTRAIT AQUEUX	207
VI.5.1	<i>Identification de composés phénoliques</i>	<i>208</i>
VI.5.2	<i>Quantification de composés phénoliques</i>	<i>211</i>
VI.6	ETUDE STRUCTURALE PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE (MEB)	217
VI.6.1	<i>Structure cellulaire des écorces d'oranges</i>	<i>217</i>
VI.6.2	<i>Impact de différentes techniques d'extraction sur la structure cellulaire de l'écorce d'orange</i>	<i>218</i>
VI.7	MECANISME D'EXTRACTION	220
VI.8	CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	222
VI.9	REFERENCES	224
	CONCLUSION GÉNÉRALE	227
	LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX	235

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les préoccupations environnementales actuelles comme l'épuisement des ressources fossiles, l'émission de gaz à effets de serre ou le réchauffement climatique imposent aux industriels de réduire leur impact sur l'environnement et de s'insérer dans une démarche plus verte. La recherche scientifique associée doit, alors, redoubler d'efforts pour répondre à cette demande. Dans le domaine de l'extraction cela se traduit, depuis quelques années, par le développement de techniques d'extraction innovantes plus respectueuses de l'environnement. De nombreuses recommandations ont émergées telles que les 12 principes de la chimie verte (Anastas and Warner, 1998) suivis des 12 principes de l'ingénierie verte (Anastas and Zimmerman, 2003) puis les 6 principes de l'éco-extraction (Chemat, 2011) dans le but de fixer un cadre à ses nouveaux procédés.

La demande des consommateurs est également un facteur important dans le déploiement de nouveaux axes de chimie verte car ils se tournent vers l'utilisation de produits d'origine naturelle et donc à base de plantes comme les eaux de constitution, les huiles végétales et les huiles essentielles dans le but de protéger leur santé et l'environnement.

Les applications de ces nouvelles techniques sont donc nombreuses dans l'agroalimentaire, la cosmétique et la pharmaceutique. Elles présentent de nombreux avantages par rapport aux techniques d'extraction conventionnelles comme un gain en temps d'extraction, une réduction de la consommation énergétique, une utilisation de solvants alternatifs et non pétrosourcés et l'obtention d'un produit non dénaturé, sans présence de contaminant et de haute qualité. Elles font appel par exemple aux ultrasons, au CO₂ supercritique, aux champs électriques pulsés, à des solvants alternatifs agro-sourcés et aux micro-ondes.

Cette étude s'intéresse particulièrement à l'utilisation des micro-ondes qui apparaît comme la méthode de chauffage la plus adaptée pour l'extraction de principes actifs végétaux car elle permet un chauffage sélectif et volumique rapide (Petrecca, 2012). En effet, depuis 1986 (Ganzler et al., 1986), les micro-ondes sont utilisées dans le domaine de l'extraction, et sont au centre de nombreuses recherches (Craveiro et al., 1989; Lucchesi et al., 2004; Paré, 1992; Stashenko et al., 2004; Vian et al., 2008) qui pourraient impacter les technologies de demain en ce qui concerne l'obtention d'extraits naturels. Le rendement d'extraction est rapide, de plus cette technique offre la possibilité d'éviter l'utilisation de solvant d'extraction, d'une utilisation de l'énergie plus contrôlée, de l'augmentation des transferts de masse et de chaleur et d'une réduction des opérations unitaires. Cependant, un des inconvénients est la

survenance de points chauds qui peuvent provoquer une combustion précoce de la matrice végétale et la dégradation des molécules désirées. Néanmoins, la superposition d'une rotation pendant l'application des micro-ondes au cours de l'extraction pourrait permettre d'homogénéiser la température et de limiter les phénomènes de points chauds (Geedipalli et al., 2007; Périno et al., 2016). De plus, l'utilisation de la centrifugation par cycles pendant l'extraction peut améliorer le rendement et la qualité de l'extrait (Michel et al., 2011). L'idée d'une nouvelle technique d'extraction combinant les micro-ondes et la centrifugation a donc émergé.

Les travaux de cette thèse « Éco-extraction par micro-ondes couplée à un champ centrifuge » s'inscrivent donc dans cette problématique. L'objectif premier est le développement d'une nouvelle technique d'extraction répondant aux nombreuses réglementations relatives à la chimie verte : sans solvant, directement à partir de la matrice végétale fraîche et en utilisant un chauffage par micro-ondes combiné à une centrifugation. Cette combinaison est mise en action grâce à un pilote développé par l'Institut de la Filtration et des Techniques Séparatives (IFTS) qui pourra être adapté pour cette application. C'est dans ce contexte qu'est né un partenariat entre différents partenaires rassemblés autour de cette thèse CIFRE (convention industrielle de formation par la recherche). La partie industrielle est représentée par l'IFTS, association de loi 1901, qui est un centre de ressources technologiques spécialisé dans la séparation liquide/solide. Les équipes GREEN et MicroNut de l'UMR408 SQPOV INRA-Avignon Université associées au laboratoire TREFLE de l'UMR5295 I2M CNRS-Université de Bordeaux, pilotent, également, l'encadrement de la thèse (Figure 0.1). Ils apportent leurs connaissances dans différents domaines : extraction du végétal, caractérisation physico-chimique de métabolites secondaires et physique couplée à la modélisation numérique, respectivement. Cette thèse s'est donc déroulée sur plusieurs sites en France : à l'IFTS à Agen (47), aux laboratoires GREEN et MicroNut à l'UMR408 SQPOV à Avignon (84) et au laboratoire TREFLE à Talence (33).



Figure 0.1 : Partenaires académiques et industriels impliqués dans la thèse

Les objectifs généraux de cette thèse sont :

- adapter le prototype disponible à l'IFTS pour l'Éco-extraction,
- évaluer l'apport de la centrifugation par rapport aux techniques d'extraction assistées par micro-ondes classiques,
- comprendre les mécanismes d'extraction qui ont lieu lors de l'application du chauffage par micro-ondes combiné à la centrifugation,
- évaluer l'apport de cette nouvelle technologie sur une sélection de produits dans un premier temps dits « modèles » puis dans un second temps, à visée industrielle pour évaluer quantitativement les avantages, limites et domaines d'application de cette nouvelle combinaison, et
- accompagner l'amélioration continue du procédé et des équipements utilisés.

Les différentes phases de mise en place de ces objectifs sont présentées en Figure 0.2 avec dans un premier temps la modification du pilote existant pour l'extraction, puis, le déroulement d'essais avec des campagnes expérimentales sur différentes matrices végétales. Dans un second temps, la compréhension des mécanismes mis en jeu dans cette nouvelle technique d'extraction sera appréhendée. De plus, des tests sur des produits à visée industrielle seront discutés dans l'optique de futures applications (produits cosmétiques, parfums, médicaments, compléments alimentaires, arômes...). Par ailleurs, une première démarche de modélisation sera abordée pour une meilleure compréhension des phénomènes physiques et évaluer plus facilement les possibilités d'optimisation.

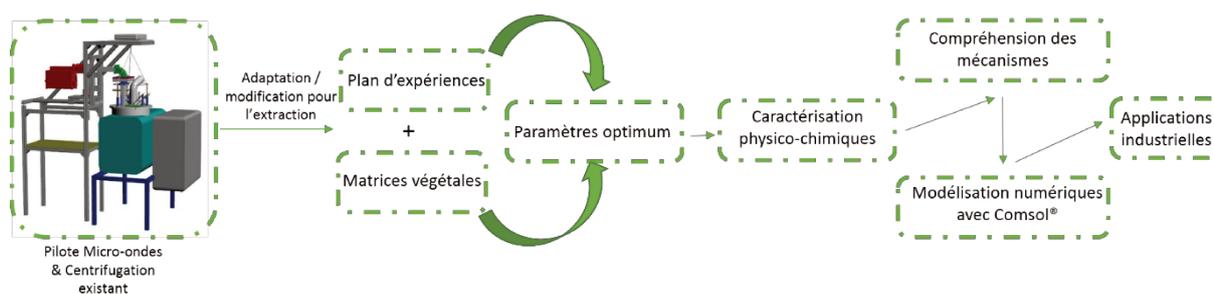


Figure 0.2 : Objectifs du projet de thèse.

Afin d'aborder au mieux les différents objectifs de la thèse, ce manuscrit se décline en six chapitres :

Le chapitre I présentera, dans un premier temps, une synthèse bibliographique de l'utilisation des micro-ondes dans l'agroalimentaire qui déclinera son principe et les différentes applications possibles dans ce domaine. Puis, les techniques d'extraction micro-ondes ainsi qu'une étude sur l'impact environnemental seront détaillées.

Le chapitre II s'intéressera au pilote qui combine un chauffage par micro-ondes et la centrifugation, à ses différentes phases de développement et tous les aspects d'ordre physique qui lui sont relatifs avec la mise en évidence de l'intérêt du couplage. Ensuite, la partie modification et adaptation du pilote au domaine de l'extraction, réalisée au cours de cette thèse, sera explicitée.

Le chapitre III sera consacré à la présentation des matrices végétales sélectionnées pour cette étude et également à leurs métabolites secondaires qui seront recherchés dans les extraits obtenus par la nouvelle technique d'extraction développée.

Le chapitre IV s'attachera à décrire la méthodologie expérimentale adoptée tout au long de ces travaux en présentant l'origine des matrices végétales et les différents procédés d'extraction utilisés, ainsi que les méthodes d'analyses et les protocoles opératoires mis en place.

Le chapitre V sera axé sur les premiers résultats obtenus pour l'extraction de molécules non-volatiles avec le pilote combinant les micro-ondes et la centrifugation. La matrice végétale utilisée est la salade pour essayer d'extraire des composés phénoliques. L'apport de la centrifugation sur l'extraction micro-ondes sera mis en évidence. Puis les résultats obtenus

seront mis en parallèle avec une autre technique micro-ondes classique déjà largement utilisée pour aider à la compréhension des mécanismes mis en jeu.

Le chapitre VI se réfèrera à l'extraction assistée par micro-ondes couplée à la centrifugation pour les molécules volatiles. La matrice végétale sélectionnée est l'écorce d'orange pour sa richesse en huiles essentielles. Deux types de molécules seront recherchés dans les extraits : les volatiles puis les non-volatiles. Une analyse par microscopie électronique à balayage sur les écorces d'oranges soumises à différentes techniques d'extraction sera ensuite discutée.

En résumé les objectifs de thèse sont :

- **d'adapter un pilote combinant micro-ondes et centrifugation existant au domaine de l'extraction,**
- **d'évaluer sa performance et ses avantages et inconvénients par rapport aux autres techniques existantes d'extraction, et**
- **de proposer des axes d'amélioration pour répondre aux demandes des industriels.**

Pour terminer, les principales conclusions de ce travail seront dégagées et des perspectives d'études et d'optimisation futures en relation avec les industriels du secteur seront proposées. Les familles de produits pour lesquelles cette combinaison pourrait donner les meilleurs résultats seront mises en évidence et celles pour lesquelles cette technique serait le moins adaptée seront identifiées. De plus, une première démarche de modélisation concernant les mécanismes d'extraction possibles lors de l'utilisation du pilote sera proposée.

Références

- Anastas, P.T., Warner, J.C., 1998. Green chemistry: theory and practice. Oxford University Press, Oxford [England]; New York.
- Anastas, P.T., Zimmerman, J.B., 2003. Peer reviewed: design through the 12 principles of green engineering. ACS Publications.
- Chemat, F., 2011. Eco-extraction du végétal. Procédés Innovants Solvants Altern. Tech. Ingénierie Ed Dunod.
- Craveiro, A.A., Matos, F.J.A., Alencar, J.W., Plumel, M.M., 1989. Microwave oven extraction of an essential oil. Flavour Fragr. J. 4, 43–44.
- Ganzler, K., Salgó, A., Valkó, K., 1986. Microwave extraction: A novel sample preparation method for chromatography. J. Chromatogr. A 371, 299–306.
- Geedipalli, S.S.R., Rakesh, V., Datta, A.K., 2007. Modeling the heating uniformity contributed by a rotating turntable in microwave ovens. J. Food Eng. 82, 359–368.
- Lucchesi, M.E., Chemat, F., Smadja, J., 2004. Solvent-free microwave extraction: an innovative tool for rapid extraction of essential oil from aromatic herbs and spices. J. Microw. Power Electromagn. Energy 39, 135–139.
- Michel, T., Destandau, E., Elfakir, C., 2011. Evaluation of a simple and promising method for extraction of antioxidants from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries: Pressurised solvent-free microwave assisted extraction. Food Chem. 126, 1380–1386.
- Paré, J.R.J., 1992. Microwave assisted process for extraction and apparatus therefore. Can. Pat. CA 2055390.
- Périno, S., Pierson, J.T., Ruiz, K., Cravotto, G., Chemat, F., 2016. Laboratory to pilot scale: Microwave extraction for polyphenols lettuce. Food Chem. 204, 108–114.
- Petrecca, G., 2012. Industrial Energy Management: Principles and Applications: Principles and Applications. Springer Science & Business Media.
- Stashenko, E.E., Jaramillo, B.E., Martínez, J.R., 2004. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. J. Chromatogr. A 1025, 93–103.
- Vian, M.A., Fernandez, X., Visinoni, F., Chemat, F., 2008. Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. J. Chromatogr. A 1190, 14–17.

Chapitre I. Microwave technology for food applications

Green Food Processing Techniques – 1st Edition - *Preservation, Transformation and Extraction*; ELSEVIER ; Editors: Farid Chemat, Eugene Vorobiev ; Paperback ISBN: 9780128153536 ; Published date: 27th July 2019 ; Page count: 586

Chapter 17: Microwave technology for food applications

A. ANGOY, S. BRIANCEAU F. CHABRIER, P. GINISTY, W. JOMAA, J-F. ROCHAS, A. SOMMIER, M. VALAT.

I.1 Introduction: Approach adopted in this chapter

What are microwaves (MWs)? What are the principles of dielectric heating? Do MW techniques respond to the requirements of novel technologies in the food industry have to comply with? What food processes are suitable for the MW processing? Does the MW processing of foods comply with the principles of a green process? These are the main questions raised in this chapter.

In a second time, common beliefs are very often associated with MW techniques. This chapter tries to draw up a list of misconceptions attributed to MWs and through the works in literature to provide a scientific point of view.

It is particularly the case for applications in the food industry due to the complexity of raw materials and the numerous effects of heating on food products. Combined with this aspect, the potential impact of food on health generates a research activity which aims at demonstrating the beneficial effects of “novel” technologies such as MWs. However, the amazing amount of published works in this domain refers to a wide range of products and it is difficult to draw general conclusions on every aspect related to the use of MWs in the food industry.

As an illustration, 257 documents relevant to keywords “food” and “MW” are referenced by Scopus in 2018 (at the end of May).

Parallel to that, when a comparison is made between a so-called conventional process and the corresponding MW process, few, if any studies present, results obtained in comparable operating conditions and provide data for environmental impact assessment. This is probably due to the technical constraints for measuring basic parameters such as temperature or relative humidity, in the presence of an electromagnetic field.

Moreover, most of the works published regard lab equipment rather than industrial applications.

In this chapter, the attempt is, from a non-exhaustive list of the common beliefs on MWs processes, to present a review of recent scientific works and to initiate, as clearly as possible, a discussion establishing the scientific reality of the more widespread dogmatic statements concerning MWs.

The discussion is based on works relative to different food processing techniques:

- cooking, baking and frying
- drying,
- thawing and tempering, and
- extraction, etc.

Prior to this discussion, a brief presentation of the concepts of dielectric heating is provided. Constraints of measurement are also covered.

The chapter closes with future trends of the use of the MW process in the food industry.

I.2 Principle, influencing factors, induced mechanisms

I.2.1 Introduction

Dielectric heating corresponds to energy conversion from an electromagnetic wave (EMW) to a dielectric media. It differs from conduction or convection heating by several aspects. Microwaves are electromagnetic waves in a frequency range adapted to the size of most of usual industrial products. The following main properties of microwave heating can be quoted:

- Volumetric heating,
- Specific heating,
- Theoretically unlimited absorbed power,
- Fast heat transfer allowing lower drying temperatures and shorter drying times than in convection or conduction,
- No direct contact with the heat source.

For food products, water is generally at the origin of dielectric heating (Datta and Davidson, 2000). Moreover, food products are generally nonmagnetic materials (Ayappa et al., 1991) which discard specific phenomena associated with magnetic materials.

I.2.2 Some theoretical aspects of microwaves

MWs are EMWs, that is, electric and magnetic fields (perpendicular to each other and perpendicular to the propagation direction), propagating in free space or in dielectric media

(Figure I.1). An EMW is characterized by its wavelength λ and its frequency f which are related by the wave velocity c through:

$$\lambda = \frac{c}{f} \quad (1)$$

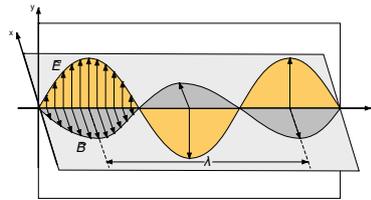


Figure I.1 : Plane EMW propagating in the z direction and polarized in the y direction. EMW, Electromagnetic wave.

MWs cover the frequency band ranging from 300 MHz to 300 GHz. The most commonly used frequencies are 915 and 2450 MHz (both in industry and 2450 MHz for home ovens) (Datta and Davidson, 2000). In Europe, regulations impose a limit on the use of 915 MHz frequency. This radio frequency (RF) limitation is $-40 \text{ dB } \mu\text{V/m}$ at 30 meters from the installation, with an obligation to declare the equipment to the competent authorities. This level of radiation is well below the limit imposed for the protection of people (typically 5 mW/cm^2 at 2 in. from equipment in the industry and 1 mW/cm^2 at 2 in. for household appliances for 2.45 GHz). This constraint on 915 MHz frequency explains why almost all the industrial equipment is of the batch type.

Only England benefits from a derogation for a frequency of 896 MHz without limitation of radiation other than for the protection of the people.

Figure I.2 shows the electromagnetic spectrum and more specifically the RF and MWs spectra.

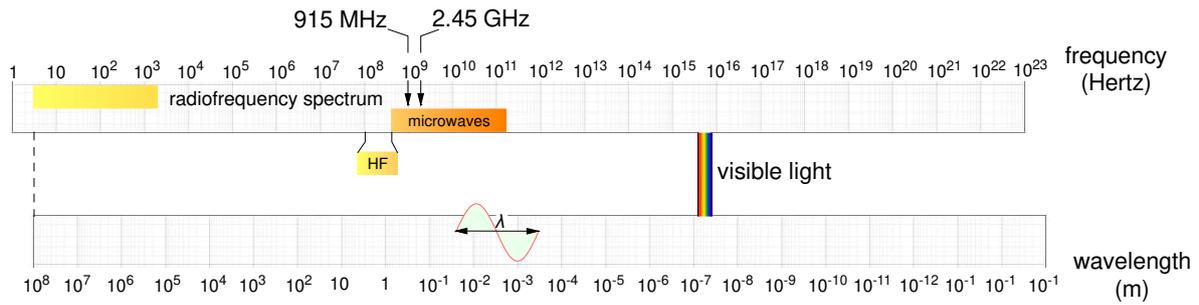


Figure 1.2 : Electromagnetic spectrum.

In vacuum, EMWs propagate at the light speed c_0 . When an EMW propagates in a dielectric material (*i.e.*, nonconductive), it interacts with the atoms or molecules of the materials and the wave velocity v is lower in vacuum (corresponding value: c_0). The interaction depends on the polarization and on ionic conduction (free ions or ionic species are oriented by themselves by ionic motion generated in the electrical field) in the material. Polarization results from different mechanisms:

- electronic polarization,
- atomic polarization,
- dipolar polarization (alignment of polar molecules caused by MW irradiation), and
- interfacial polarization.

The most significant effect for dielectric heating, at MWs frequencies, is dipolar polarization. Polarization is described by the permittivity ϵ of the material. In most textbooks, complex relative permittivity is used and is defined as:

$$\epsilon_r^* = \frac{\epsilon^*}{\epsilon_0} \quad (2)$$

Where $\epsilon_0 = 8.85 \times 10^{-12} \text{F/m}$ is the permittivity of free space (Schubert and Regier, 2005). Relative permittivity is a complex quantity whose real part ϵ_r' is named the permittivity of the material and the imaginary part ϵ_r'' , the loss factor. The loss tangent (named also dissipation factor) $\tan \delta$ is also defined as:

$$\tan \delta = \frac{\epsilon_r''}{\epsilon_r'} \quad (3)$$

The permittivity ϵ_r' gives the ability of a particular media to “store the electrical potential energy” from an electrical field, whereas the loss factor is responsible for the wave

attenuation and the conversion of electrical energy into heat. For distilled water, at 20°C, values of permittivity are $\epsilon_r' = 78.2$ and $\epsilon_r'' = 10.3$.

In a dielectric media, as the wave velocity decreases, the wavelength λ_m also decreases in regard to the wavelength in vacuum λ_o .

MWs as EMWs obey Maxwell's equations. However, it is not a question here of describing the theory underlying electromagnetism but to give a comprehensive presentation of the phenomena involved in dielectric heating. On the basis of the interaction of a plane wave (EMW) with a dielectric material, a qualitative description of the physical principles responsible for dielectric heating is given in the following part.

1.2.3 An insight into the principles of dielectric heating

1.2.3.1 Interaction wave/matter

When a plane EMW travels in a dielectric 1 (say air) and strikes the surface of another dielectric 2, depending on the properties of the two dielectrics, the following phenomena take place (Roussy et al., 2003) (Figure I.3) :

- Case 1 —If the permittivity of dielectric 2 is greater than the permittivity of air, a transmitted wave propagates in dielectric 2 (lower wavelength). If the second dielectric is nonlossy, the transmitted wave is not attenuated in dielectric 2. It is the case of microwave (MW) transparent materials (e.g.: quartz) where the MWs pass through the material without any loss. A reflected wave travelling in the opposite direction to the incident wave is formed. The amplitude of the reflected wave depends on the contrast of permittivity (ϵ_r') between dielectrics 1 and 2.
- Case 2—In the case where dielectric 2 is lossy, the transmitted wave is exponentially attenuated and electromagnetic power is converted into heat in the material. It is the case of MW-absorbing (lossy) materials (e.g. polar molecules such as water).
- Case 3—If the second medium is a perfect conducting material (e.g. metals), it can be treated as a dielectric with an infinite permittivity. In this case, the wave is reflected. Induced currents in the vicinity of the surface (skin effect) diminish the amplitude of the electric field (for nonmagnetic materials) for the reflected wave.

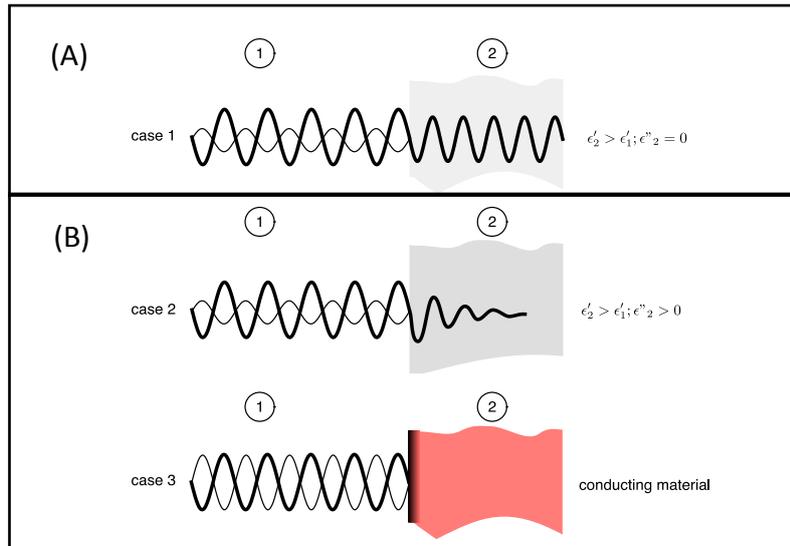


Figure I.3: Plane wave propagating in the air and striking a plane surface: (Case 1) non-lossy dielectric material, (Case 2) lossy dielectric material, and (Case 3) conducting material.

The only relevant configuration for dielectric heating is case 2. The electric field of the transmitted wave interacts with polar structures (polar molecules or clusters) in the dielectric and if the frequency of the incident wave is properly adjusted, conversion of electromagnetic energy into heat occurs in the volume of the dielectric.

Metaxas and Meredith, (1983) provide an explanation of dielectric heating in the following manner: “the origin of the heating lies in the ability of the electric field to polarize the charges in the material and the inability of this polarization to follow extremely rapid reversals of the electric field”.

At a certain frequency, in a band of frequency centered around a frequency named relaxation frequency, the polar molecules experience difficulties in aligning themselves with the alternating electric field. This results in heat dissipation due to interacting forces between molecules. If these interactions between molecules are weak, as for gases, no heat is produced. The extent of heating is given by the loss tangent (high if $\tan \delta > 0.5$, medium if $0.1 < \tan \delta < 0.5$ and low if $\tan \delta < 0.1$).

Both ϵ' and ϵ'' depend on wave frequency and temperature. ϵ' is a decreasing function of frequency and ϵ'' goes through a maximum at the “relaxation frequency” f_r (Figure I.4). At

this frequency, permittivity ϵ' experiences a rapid decrease because the clusters or molecules in the dielectric fail to align in the direction of the electric field due to its rapid change.

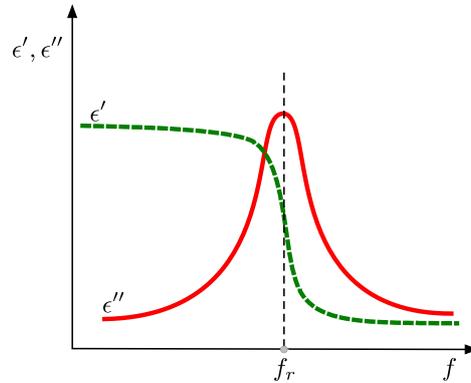


Figure I.4: Evolution of dielectric permittivity and factor loss as a function of frequency.

For water, the maximum value of ϵ'' is obtained at approximately 20 GHz (Schubert and Regier, 2005). Temperature dependence of both permittivity and loss factor varies from one product to the other. In the case where permittivity decreases and loss factor increases with temperature, the power dissipated in the material raises with the temperature of the product and may lead to a thermal runaway. Moreover, relaxation frequency increases with temperature and is significantly lower than 20 GHz for bond water.

Thus, an efficient dielectric heating might become much less efficient when water activity decreases during drying operation, for example.

As mentioned earlier, the amplitude of the wave, in a lossy dielectric, decreases exponentially according to the following equation:

$$P = P_0 e^{-\frac{z}{D_p}} \quad (4)$$

where P is the power transported by the wave at a distance z from the plane surface and P_0 is the incident power.

The penetration depth D_p is defined as the distance from the surface at which the incident power is reduced to 37% of its value and may be expressed as (Fu, 2008):

$$D_p = \frac{c_0}{2\pi f \sqrt{2\varepsilon'_r} \sqrt{(\sqrt{1 + (\tan \delta)^2} - 1)}} \quad (5)$$

When $\tan \delta$ is small (e.g. < 0.1), the previous equation can be simplified as follow:

$$D_p = \frac{c_0 \sqrt{\varepsilon'_r}}{2\pi f \varepsilon''}$$

The expression shows that the penetration depth is inversely proportional to the wave frequency. It is a decreasing function of the loss factor. For water at 20°C and at 2.45 GHz wave frequency, the penetration depth is about 1.7 cm and 5.7 cm at 95°C.

The choice of 915 MHz or 2.45 GHz for MW operational frequencies is the result of a compromise: at 915 MHz the loss factor is not at its maximum for water but in return it has a higher penetration depth. The rate of heat generation per unit volume, \dot{Q}_{mw} in a dielectric material at a given position is provided by:

$$\dot{Q}_{mw} = 2\pi f \varepsilon_0 \varepsilon_r'' E^2 \quad (6)$$

where, E is the root mean square value of the electric field and f the wave frequency. The distribution of electric field in the material is far from being uniform and is difficult to predict due to the complex phenomena involved, which depend on numerous factors (shape and size of the product, type and shape of the applicator, product dielectric properties, etc.).

1.2.4 Heat and mass transfer in food processing

To highlight the interest in MW heating, (Schubert and Regier, 2005) propose to compare the rate of heat generation by MW to the rate of heat conduction in a plane slab of thickness $2l$ (with $2l < 2D_p$) irradiated from both sides:

$$\frac{\dot{Q}_{mw}}{\dot{Q}_{cond}} = \frac{\omega \varepsilon_0 \varepsilon_r'' E^2 l^2}{k \Delta T} \quad (7)$$

To achieve high rates of conduction, it is thus necessary to impose a high temperature gradient (high ΔT). When the temperature difference ΔT is limited, MW processes will lead to a much faster operation. More uniform heating may also be obtained, if heat generation is evenly distributed in the dielectric material. However, dielectric heating depends on the magnitude of the electric field which, in most cases (thick products), strongly varies inside the product.

As a result, hot spots are frequently observed and require a control of the process and/or the introduction of a mode stirrer or a rotating turntable to avoid a loss of quality of the product (Chandrasekaran et al., 2013).

1.2.5 Associated metrology

MW setup is constituted of a source (magnetron or klystron), a line (waveguide) to transport EMW to the applicator in which the product is positioned. Several textbooks describe in details MW devices (Schubert and Regier, 2005), (Metaxas and Meredith, 1983), (Fu, 2008), (Reader, 2006).

1.2.5.1 Incident and reflected power

During the MW heating operation, the material absorbs part of the incident power and a portion is reflected by the cavity and returns to the MW generator. The amount of reflected power depends on the impedance match between the applicator and the transmission line. The input impedance of the applicator is related to the applicator and the product volumes and on the dielectric properties of the product. If a perfect match is obtained, only part of the incident power is transmitted to the material, the rest being dissipated in the applicator walls. If the reflected part is too important, the magnetron may be degraded. Generally, large magnetrons are protected from reflected power by a circulator that diverts reflected power from magnetron to a water load. The monitoring of the reflected power is generally a good indicator of the amount of water loss in the product and therefore a useful tool to manage MW heating operation.

A manual or an automatic impedance matching allows a reduction of the reflected power and adaptation of the incident power to the product and to the cavity. This matching consists of inserting an iris or stub system into the waveguide.

1.2.5.2 Temperature measurement

The electromagnetic field inside the cavity being very intense most of the sensors are disturbed in this environment and most electronic devices could be damaged. For measuring

the temperature inside the product, normal thermocouples will cause a disturbance of the electromagnetic field and cannot be used. Fiber-optic sensors are a good alternative as they avoid this disturbance problem.

All other types must be deported outside the cavity and protected with wave traps. Metal tubes with sufficient length, fixed on the cavity could serve as wave traps and thus prevent the electromagnetic field from damaging the sensor. For this, the tube diameter has to be lower than the cut-off wavelength at the working frequency. Moreover, the tube length has to be greater than the propagation length of the evanescent wave. It is important to specify that tube diameter has to be further reduced if the tube is filled with such a dielectric material as quartz. With such wave traps, infrared sensors can provide reliable information on the surface temperature of the product and can be used to drive the operation.

Different technologies have been tested in MW systems as shown in Table I.1.

Table I.1: Comparison of different temperature analysis systems (from (Cuccurullo et al., 2002) and (Pert et al., 2001)).

Technology	Monochromatic radiation pyrometer	Two-color radiation pyrometer	IR Thermography	Optical fiber thermometer	Thermocouple
Measurement range °C	0 - 2800	400 - 4000 Not adapted for food industry	0 - 50 (depending on the model)	0 - 1900	0 - 1600
Adapted to microwave	Yes Contactless	Yes Contactless	Yes Contactless	Yes Contact	No Contact
Advantages	<ul style="list-style-type: none"> – Moderate cost – Moderate accuracy – Easy to move on surface – Usable in continuous 	<ul style="list-style-type: none"> – Moderate cost – High accuracy – Easy to move on surface – Usable in continuous mode 	<ul style="list-style-type: none"> – Good accuracy – Give map of surface temperature 	<ul style="list-style-type: none"> – Excellent accuracy 	<ul style="list-style-type: none"> – Low cost – Good accuracy in conventional heating system
Disadvantage	<ul style="list-style-type: none"> – Surface measurement 	<ul style="list-style-type: none"> – Surface measurement 	<ul style="list-style-type: none"> – Surface measurement 	<ul style="list-style-type: none"> – High cost – Usable only in batch – Very fragile 	<ul style="list-style-type: none"> – Usable only in batch

1.2.6 Pro and cons of dielectric heating in food processing

The frequently reported properties of MW processes in the food industry are listed in Table I.2.

Table I.2: The pro and cons of microwave processes in the food industry.

Pros	Cons
Ability to achieve high heating rates	Narrow dependence of dielectric properties on food product characteristics (quantity and state of water, salt and sugar concentration, particle size, structure, density, etc.)
Volumetric heating	Non-uniform temperature distribution (hot and cold spots)
Selective heating	Difficult process control (temperature measurement dependent on temperature distribution, etc.)
Color and texture preservation according to the process	
Reduced processing time	

1.3 Techniques at laboratory scale and industrial scale

Manufacturers have developed MW systems at the lab scale. Poux et al., (2016) have listed all the setup available for organic synthesis and extraction. The maximum delivered power varies from 0.2 to 6 kW and the volume of the reactors from < 1 mL up to 5 L. Most apparatus operate in batch mode. Continuous and discontinuous processes are available. However, this type of apparatus (lab scale) for food processing is not developed. Thus for a given couple (product/process), a very thorough study is required to establish the feasibility of the process at the pilot scale.

1.4 Pre and post processing and coupling

The MW technique is the only operational unit in a global process system and can be used as a pretreatment of the materials before further processing, and posttreatment as an intermediate or final stage of a process. It can be coupled with other technologies to enhance its productivity and efficiency.

1.4.1 Pretreatment

1.4.1.1 Pretreatment by means of microwaves

MW could be used as a pretreatment step to improve efficiency of other stages in the process.

MW pretreatments of oilseeds before mechanical/chemical extraction are likely to improve oil yield and oil quality during storage, even under extreme environmental conditions. The treatment simply consists of a short application of MWs (a few minutes) before conventional oil extraction.

A review by Koubaa et al., (2016) analyses different studies using MWs in pretreatment for oilseed extraction. For instance, preheat of sunflower seeds by MWs resulted in a decrease in lipase activity accompanied by an increased content of phosphorus and free fatty acids (Veldsink et al., 1999). Rapeseeds oils have a better flavor when preheated by MWs and for sesame seeds.

Concerning rapeseed oil, two studies carried out by Rękas et al., (2017) and Wroniak et al., (2016) use MWs prior to cold pressing. They show that the storage stability of phenolic compounds was higher in oils produced from MW pretreated rapeseeds than in reference oils, whereas the fatty acid composition of oils was not altered (relevant from the nutritional point of view).

MW treatment significantly improves the fuel characteristics of the wheat and barley straw and improves the grindability and hydrophobicity of the biomass before torrefaction (Satpathy et al., 2014).

MW applied as pretreatment induces lignocellulosic breakdown through the molecular collision caused by the dielectric polarization (Aguilar-Reynosa et al., 2017). It allows the treatment time to be reduced from 17 h to 3 min compared to classical hydrothermal treatment and fractionates lignocellulosic compounds into a cellulose rich residue, a liquor rich in lignin and recoverable hemicellulose (Singh et al., 2017). After this pretreatment, alkali hydrolysis liberates 75%-80% of reducing sugars (to be compared with the value of two percent obtained with untreated biomass). This pretreatment has been shown to work effectively with a wide range of lignocellulosic feedstocks as rape straw, sugarcane bagasse, sago, wheat straw (Kostas et al., 2017).

MW pretreatment may also be before anaerobic digestion to help the hydrolysis step.

1.4.1.2 Pretreatment before microwaves

Several pretreatments have been reported to have a beneficial effect on MW efficiency.

The plant material can be sieved or ground. Smaller particle size facilitates better solute-solvent interactions (Kala et al., 2016). Huang et al., (2018) have shown that both maximum temperature (from 475°C to 557°C) and heating rate (from 75 to 95°C/min) increased with decreasing particle size (from around 1 mm to 150 µm) of corn stover during MW pyrolysis. Nevertheless, too many finer particles may cause problems in subsequent cleanup systems.

The preleaching time (time of contact between the plant matrix and solvent before irradiation) improves the hydration status of the plant, thus making the cell more susceptible to thermal stress for polyphenols extraction (Kala et al., 2016). Immersion in a hypertonic solution increases mass transfer of water between membranes and extracellular media.

The increase of the water content (with vapor for example) in matrix promotes hydrolyzation and reduces the risk of oxidation of active compounds.

1.4.2 Posttreatment

1.4.2.1 Posttreatment after microwaves

Enzymatic saccharification and fermentation are also classically used after this MW treatment has been used to enhance delignification.

Once the extraction is completed, the extract has to be clarified, especially if the matrix has been previously ground, to remove solid particles by filtration and/or centrifugation techniques and then purified by chromatographic processes, for example.

1.4.2.2 Microwaves as posttreatment

MW could be applied at the end of air-drying (moisture < 20%) in order to finish the operation of moisture squeezing. Drying times could be reduced down to 64% for bananas for instance (Karam et al., 2016).

1.4.3 Coupling

An important aspect of dielectric heating is that heat is provided essentially to the product. However, irrespective of the process, thermal transfers by conduction, convection or thermal radiation exist between the product and the device. It follows that part of the MW energy (obtained at a high investment per kW) is spent to compensate for the thermal loss of the product. In many cases, it is more advantageous to combine with MWs a conventional heating to reduce the installed MW power. The investment is reduced and also the risk of arcing due to the decrease in electric field because of the reduction of power required. As an example, MW-assisted drying can be cited. Water vapor is not absorbent (nonlossy) but has to be evacuated to eliminate condensation on the dryer walls and to limit the humidity of ambient air. Thus for an efficient drying, beyond the mechanisms of heat generation in the product, aeraulic conditions have to be carefully defined (temperature and air flow rate). In the case of an overventilation, the required MW power will raise. On the contrary, an underestimate of air flow rate will lead to condensation in the dryer with the risk of rewetting the product and an increasing risk of arcing.

A recent trend is the concept of hybrid/combination mode or otherwise called MW-assisted food processing technologies, which infers utilizing MWs to enhance conventional and nonconventional food processes and consequently obtaining high end products, that is not readily achievable by traditional techniques. The technology integrates the advantage of MW energy to overcome the shortcomings of other food process technologies.

A typical example is the combination of MW energy with convection heating with the latter being known to require greater energy consumption and longer processing times.

MW-assisted drying techniques can be divided into three categories: MW-assisted air drying (MWAD), MW-assisted vacuum drying (MWVD) and MW-assisted freeze drying (MWFD).

MWAD is principally used in several industrial food processing applications in order to shorten drying times and enhances product quality as compared with hot air drying alone.

For kiwi fruits and banana slices, increase in drying rates of 64% and decrease in tissue shrinkage of 40% are reported (Karam et al., 2016).

The coupling of MWs with other drying methods permits also to overcome some limitations of single MW drying: occurrence of hot spots in the foodstuffs during heating, subsequent to nonuniform electrical field, textural damages (arcing at power > 500 W in small-scale drying cavities and puffing) as well as subsequent scorching and development of off-flavors.

MWVD is one of the recently emerging food processes and is especially suitable for heat-sensitive products (such as fruits of high sugar content and high-value vegetables). It has been successively used for drying grapes, cranberries, bananas, tomatoes, carrots, garlic, potatoes, kiwi fruits, apples, pears, etc.

MWFD shortens drying times to 70%-90% and remains faster than freeze-drying (FD) or HAD with products of better qualities (higher porosity, lower density, lower shrinkage) as well as higher rehydration potential and minimal extent of color change. The energy savings can achieve 54% and are particularly convenient for products of intermediate value but it is difficult to use in large industrial applications due to gas ionization.

Section 1.6 gives a lot of examples of coupling MWs with other principles to integrate the benefits of MW technology. We can quote also some examples where MW technology is assisted. For instance, vacuum reduces the boiling temperature of the solvent (interesting for thermally sensitive products) and provides an oxygen-free environment (interesting when oxidation of target is feared). Ultrasounds help to increase the yield of polyphenols by promoting the destruction of the cellular integrity. High pressure helps in squeezing out the analytes from the punctured cell walls and glands (Kala et al., 2016).

1.5 Applications in transformation, food processing, and preservation

Theoretical time saving in heating systems using MWs attired companies and in particular food industries. During the last 40 years, tests have been performed in order to integrate MW technologies in classical food industry processes like pasteurization, sterilization, blanching or frying.

1.5.1 Pasteurization—Sterilization

Pasteurization and sterilization are two thermal processes. They are used to increase shelf life of food products. Pasteurization is a food treatment aiming to eliminate pathogenic microorganism and to reduce overall microbial load (Bornhorst et al., 2017). Sterilization is also a food treatment of the product and in most cases of its packaging in order to eliminate all microorganisms of the product (Albaali, 2006). Historically, pasteurization as sterilization treatments is thermal processes based on convection or conduction systems. In the past 50 years, other non-thermal treatments are used as pulsed electric fields, high pressure system, etc.

MW techniques are used for pasteurizing as well as for sterilizing operations. Different cases come from industry as well as from the laboratory. It can be used in continuous mode or in batch. Single mode cavities are used most of the time in food industry. Power of installations is of course depending of the size of the installation ranging from 10 to 200 kW (Brody, 2011). In pasteurization and sterilization applications, MW technology (alone or in combination) presents specificities in comparison with other ways to heat products.

1.5.1.1 Time savings

For pasteurization treatment, MW can be used as a single way of heating food or in combination with another system (usually hot water). Peng et al., (2017) have shown comparisons between packed carrot pasteurization in hot water and MW. They show that after a 20 min at 60°C preheating time, heating time to reach a 3 min F90°C value is more than 5.7 times shorter by using MW than hot water. To reach the F90°C = 3min in an MW system, a holding time is needed. If these two durations are considered, the saved time is still around 60%. Same approach is done with a F90°C = 10min target and MW system has a heating time 9.5 times quicker than hot water system. Including the holding time, saved time is around 64%. The same conclusion is also given for other food products like mashed potatoes or green peas puree (Bornhorst et al., 2017).

1.5.1.2 Food quality preservation

Measured Impact on process time is also completed by a positive impact of MW treatment on food quality. For instance Peng et al., (2017) have shown that packed carrots treated by MW present a higher Betacarotene and carotenoids rate than those treated by hot water. The same conclusion is drawn by Bornhorst et al., (2017) for the color of mashed potatoes. She demonstrates that time reduction is responsible for a diminution of Maillard reaction. Food quality is also evaluated by Bornhorst et al., (2017) with model foods applied on mashed potatoes and peas. A demonstrated model has been developed to show impact of pasteurization (assisted by MWs or with hot water) on food products and confirms previous conclusions: color changes are reduced in MW-assisted processes. Effect of MW on texture is not different from hot water treatment effect.

Quality of MWs heated products is also demonstrated for surimi products (Cao et al., 2018). Two processes are compared.

The first one is the most common. It uses steam and hot water in different baths to process surimi. The first step is to drop raw material to a 93°C water bath for a 90 s duration, then it falls to a second pool at 95°C for 90 s to permit coagulation. These two pools are heated by steam (158°C / 0.6 MPa) and pumps insure water circulation.

The second one, more innovative, uses a combination of steam and MW. Instead of soaking food product in different pools, product is conveyed at 5.27 m/min through boxes that send MWs (at 25, 35 and 45 kW) and steam is sprayed to avoid the drying of the product and to add an auxiliary heating system.

Comparison of different parameters drives to different conclusions. The moisture content of the product is really more controllable on the combined process with MW; texture is therefore easier to control. Sensory analysis has also given better results on product transformed by microwave and steam.

Improvement of texture of fishes is also related by Ji et al., (2017) on Alaska Pollock surimi. MW process (300 W for 1, 2, 5 or 10 min) gives better gel texture than water bath treatment (30 min immersion in a 90°C water).

1.5.1.3 Energy consumption

Energy consumption measurement method has to be defined before running any comparison. It is quite hard to find subsequent energy consumption comparisons in scientific literature. Such a comparison has been done on a surimi process (Cao et al., 2018). Process consists of heating surimi in a water bath (gas heated) or in a water bath with MWs. In this case (as in most of studies), time to heat product is really reduced (Liu and Lanier, 2016) and consequently energy consumption. For this surimi application, energy saving represents 13.69% by reducing time of 61%.

Comparison of parameters of different approaches can be based on the examples from the literature of the last years. It shows also that pasteurization or sterilization are topics mainly studied in China or the United States over the last 5 years (Table I.3).

Table I.3 : Comparison of different pasteurization and sterilization process microwave assisted.

Action	Product	Microwave Alone or Combination	Main parameters	Laboratory Scale (LS) or Industrial Scale (IS)	source
Pasteurization	Mashed potatoes and green peas	C	Preheating at 60°C in hot water than exposition to a single mode 915 MHz microwaves and recirculating hot water (1.7 min at 90°C or 95°C)	LS	(Bornhorst et al., 2017)
Pasteurization	Surimi	C	Steam and microwave combination, belt conveyor at 5.27 m/min, power of magnetron at 25, 35 and 45 kW	IS	(Cao et al., 2018)
Pasteurization	Prepacked carrots	C	Single mode 915 MHz microwaves system and four sections [preheating with water, microwave heating in water (2 cavities with a 14 kW power), holding in hot water and cooling ice cold water]	LS	(Peng et al., 2017)
Pasteurization	Alaska pollock Surimi	A	Samples are heated in microwave set to 300 W for 1, 2, 5, and 10 min; comparison with a water bath at 90°C for 30 min.	LS	(Ji et al., 2017)
Pasteurization	Palm fruit	A	Batch system using a 486 kW magnetron at 2.45 GHz	LS	(Sarah et al., 2018)
Sterilization	Precooked beef slices	C	Continuous system, 2 X 5 kW single magnetron at 915 MHz	LS	(Tang et al., 2008)
Sterilization	Vegetable puree	C	Under pressure system, using a 2.45 GHz microwave system at 1 kW	LS	(Reverte-Ors et al., 2017)

I.5.2 Drying

Drying, one of the oldest preservation techniques, consists of removing water from the product by application of heat. The moist product is heated to a specific temperature where the evaporation or vaporization can occur. Drying process techniques can be classified into different categories depending on the mode of heat transfer and the mode of moisture evacuation.

Two modes of heat transfer can be distinguished, which are as follows:

- Surface supply with conduction, convection, or radiation where heat is supplied on the surface of the product. The surface of the product dries out faster than the core and depending on drying conditions an overdrying at the surface can occur leading to a case-hardened layer formation.
- Volumetric supply where heat is supplied to the core of the product thanks to the interaction of the wet material and especially water with the electromagnetic field.

Unlike conventional drying methods, where the heat transfer from the surface of the product to the interior relies mainly on conduction, during MW drying, the energy is generated in the liquid, which is distributed throughout the wet material. Due to this phenomenon, there is a number of attractive advantages associated with the use of MW-enhanced drying, which include volumetric heating, moisture levelling, reduced drying times, and high drying rates.

The reduction in drying time compared to conventional drying is very much dependent on the amount of MW incident power used in the drying process, and of course highly dependent on the type of product being dried. Other important differences are summarized in the following list:

- **Volumetric heating:** As the energy from the EMWs is transferred directly to the liquid, which is distributed throughout the wet material, a bulk heating phenomenon prevails. This volumetric heating can eliminate the case hardening of products, which is usually associated with convective hot air drying.
- **Higher fluxes of liquid to the drying surface from the interior:** During the period when the MW power absorption is maximal in the material, liquid fluxes migrate from the core of the material to its surface. This phenomenon underlines the importance of

using adequate air flow rates over the drying surface in order to avoid excess liquid accumulation around the surface when these liquid fluxes are most prominent.

- **High temperature and internal pressure buildup:** Due to volumetric heating, a pumping effect appears to push the water from the interior of the material to the drying surface. This effect, which is caused by internal pressure buildup (Figure I.5), can be used to great advantage in enhancing moisture migration through the material during drying. It should be noted that due to the higher temperatures and pressures, there is a greater risk of causing mechanical or physical damages to the material.

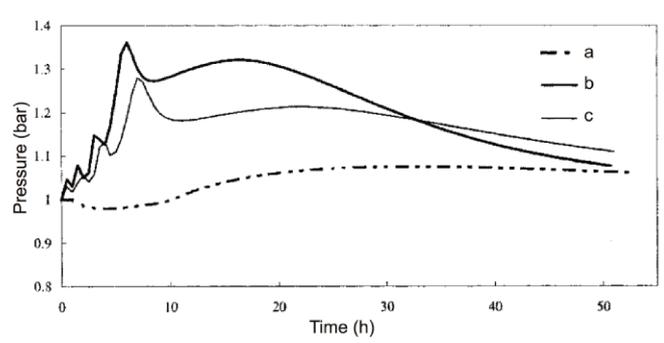


Figure I.5: Internal gaseous pressures for different drying cases of pinewood (a) convective drying, (b) and (c) microwave drying with 5 and 10 kW/m² incident power, respectively (Turner et al., 1998).

- **Preferential heating of wetter areas:** Due to the dielectric properties that are decreasing when the moisture content decreases, the wet regions of the material receive more energy than the dried ones. For instance, for thick materials, this phenomenon will help to get a moisture levelling. The power density exhibits a phase change during the drying process, and the MWs appear to “track” the moisture distribution in the pores of the material being dried.

During a drying process, three periods can be distinguished, which are as follows:

1. A warming phase or initial phase where temperature evolves quickly and water content drops slightly.
2. A so-called constant rate period where water content decreases rapidly. Temperature is mostly constant and depends on the drying process used (MW-assisted hot air drying, MW vacuum drying, MWFD, etc.). When water driven to the surface is not

quickly transported away from the product, the temperature can reach the boiling temperature during this period (100°C at atmospheric pressure),

3. A falling rate period where the loss of water slows down and the temperature of the material increases. During this period the quantity of water transported from the inside of the product is not sufficient to maintain a wet surface.

During MW-assisted drying the falling rate period could be critical to be managed specially for foods where biopolymers can absorb the energy of the MWs. Indeed, an increase of ϵ'' with temperature will lead to an overheating and a risk of burning of the product (Song et al., 2016), (Franco et al., 2017), (Siguemoto and Gut, 2016). In such sensitive products, MW energy should be intermittent or driven by a temperature measurement. The duration of each phase depends on the heat and mass transport properties of the product and on the energy delivered. A limitation of using MWs in a drying process is the nonuniformity of the electromagnetic field in the dryer, which can give a nonuniform temperature distribution in the product. In order to avoid this disadvantage, the product can be moved making all parts receiving almost the same amount of energy or using mode stirrers to distribute the waves in the dryer. Mode stirrers are mobile metallic elements that modify the electromagnetic field, resulting in a nonstationary distributed energy over the product.

1.5.3 Microwave with convective drying

In traditional air-drying processes, hot humid air is used to heat the material and to remove moisture from the product. When associated with MWs, volumetric heating involves a liquid flux migration from the core of the material to its surface, and air flow is then mainly used to remove moisture from the surface of the product. Such combination significantly decreases drying time as it allows to lengthen the constant rate period and reduces the risk of case hardening at the surface of the material (Maurya et al., 2018), (Azam et al., 2018), (Salim et al., 2017).

1.5.4 Microwave vacuum drying

Vacuum drying is generally used for thermal sensitive products that cannot be processed by using hot air drying. Reducing pressure leads to reduce the water boiling point, for instance at a pressure of 0.1 bar, the vaporization temperature is almost equal to 45°C. Otherwise, reducing pressure and air density in the dryer weakens the ability of air to transfer heat to the material. The association between vacuum drying and MW heating seems to be a good alternative as MWs are efficient to transfer energy to the product (Monteiro et al., 2018), (Lv et al., 2018). In this situation the pressure level in the dryer mainly controls the product temperature during the constant rate period. During the falling rate period where moisture moving from the core is not sufficient to maintain a wet surface, the temperature might increase rapidly. During this period the energy of MWs should be managed by being applied intermittently or driven by a temperature measurement.

1.5.5 Thawing and tempering

Thawing and tempering differ from each other by the final temperature attained at the end of the process. Thawing is complete when the product temperature has reached 0°C and no ice is present (Schubert and Regier, 2005). For tempering, the final temperature is maintained just below the freezing temperature to soften the product in order to facilitate chopping and handling.

James et al., (2016) underline the importance of food contamination during thawing. The microbiological load is mainly located on the food surface, and during thawing, surface temperature is more elevated than the other parts of the food and such that the growth of bacteria is possible.

Different conventional techniques exist for thawing (James et al., 2016) are as follows:

- air-assisted thawing (still and forced air),
- water-assisted thawing, and
- vacuum - condensing steam-assisted thawing.

Emerging techniques are also developed, such as acoustic pressure-assisted thawing and RF-assisted thawing. Tempering is usually performed processed with air.

Both MW and RF techniques can be found in industrial processes. Because of lower frequencies, RF presents advantages as compared with MW thawing, such as greater penetration depth and more uniform heating. However, RF equipment is more expensive (Pham, 2014). An uneven distribution of heat with MWs may cause thermal runaway due to the greater absorption of MW in liquid water than ice. Consequently, the thawed parts of the food absorb a greater amount of energy and heat up rapidly, which can induce the beginning of cooking. To avoid this phenomenon, intermittent heating is usually applied to allow relaxation of the temperature field in the material. The main advantage of MW thawing is a marked reduction of thawing time. Taher and Farid, (2001) use intermittent dielectric heating to thaw frozen minced beef. They obtain a better temperature homogeneity with cyclic heating than with continuous operation. They also compare thawing time for conventional (air thawing, 21°C) and temperature-controlled MW thawing. They observe a marked reduction of thawing time with the MW process (divided by 5).

Chen et al., (2016) compare cycled power heating and inverter heating (constant power applied but with the same average power as for cycled heating) for the thawing of Tylose, in an experimental and numerical study. Inverter heating was presented as a method improving heating rate and temperature uniformity and limiting overcooking at corners and edges. Experimental results obtained show similar heating rates and no appreciable difference in color of samples treated by both methods.

Pupan et al., (2018) studied the effect of different freezing and thawing methods on the flavor and sensory properties of durian puree. In particular, they used two different thawing methods, such as refrigerator and MW. The sensory analysis shows odor and flavor changes in the samples thawed by MW. Moreover, off-flavor and off-odor are remarked in the MW samples and are attributed to the formation of a new volatile compound during thawing. In this study, the two thawing methods did not lead to significantly different drip losses. Moreover, the thawing time for the two methods were extremely different: 3 h for the refrigerator method (sample stored at 4°C and core temperature reached 0°C) and 70 s for MW thawing (100W, core temperature reached 0°C).

I.5.6 Microwave frying

Frying is a very specific food operation used in order to give the products specific organoleptic properties of products (taste, texture, color, etc.) (Pankaj and Keener, 2017). Such a process is used in food industry as well as for domestic applications.

MW application can also reduce process time in frying system. For instance, frying time for chicken breast meat has been reduced by a factor of three (Barutçu Mazi and Mazi, 2017) by using MW heating (365W in a domestic oven) instead of classical frying system. The organoleptic results are correct even if the product color is a little too light and its texture not hard enough.

It is also possible to fry french fries by using MW system (Parikh and Takhar, 2016). Results are much better than in chicken application. The two magnetrons of 750 W at 2.45GHz used in a 36 L fryer help in increasing quality of products. For a frying time over 90 s, fat content of french fries is lower than in the conventional system. Moreover, texture is also improved, and during the process, internal pressure evolution of the product during MW frying is significantly higher than in the conventional frying.

Using an MW can help in decreasing process time as well as improving quality product. Besides, effect can also be positive on oil quality. When oil is heated with a moderate power MW system (360 W), oil is more degraded than with high power (900 W) (Aydinkaptan et al., 2017). It can be explained by the shorter heating time needed to reach the setpoint temperature. MW heating led to better final product properties (in free fatty acid level, peroxide value, viscosity, etc.) than with conventional systems.

MW frying system can be also coupled to other systems as ultrasonic and vacuum system (Devi et al., 2018), (Su et al., 2018) to improve the quality of mushroom or potato chips.

I.6 Applications in extraction of food ingredients

I.6.1 Extraction principle

Due to its efficiency and ease of implementation, solid-liquid extraction is the most widely used technique for the recovery of bioactive molecules from plant sources. It is widely applied

in the food and pharmaceutical industries to extract compounds of interest from plants for the production of beverages and medicines, for example.

Solid-liquid extraction is a physical transfer of matter between a solid phase, which contains the substances to be extracted and a liquid phase, the extraction solvent (Pham, 2014; Taher & Farid, 2001). Following the contact between solvent and heterogeneous solid, the substances having an affinity for the solvent are solubilized and transferred from solid phase to liquid phase. During extraction, substance content in solid phase decreases, and their concentration in liquid phase increases. The transfer of matter is carried out by molecular diffusion and by convection. Extraction is a nonstationary process that stops when a balance of concentration in both phases (solid and liquid) is established. However, if the solvent is continuously renewed, the diffusion continues until the solid phase is exhausted (Dibert et al., 1989). Generally, the extraction mechanisms are not very selective. In addition to the molecules of interest, other substances are also co-extracted from the solid phase to the solvent. The solution obtained is called extract. The solid source exhausted after extraction contains very little or no solute. It is called residue. In some cases the plant material is pretreated before extraction to improve contact between the phases. Drying and grinding are often used as pretreatment operations. Sometimes enzymatic pretreatments are also used to facilitate the dissolution of interest molecules in the solvent. The rupture of cell walls by pectinases and cellulases promotes the extraction of phenolic compounds (Bonilla et al., 1999).

During the extraction successive stages of mass transfer can be distinguished:

- penetration of the solvent into the solid matrix,
- dissolution of the solute in the solvent,
- diffusion of the solute toward the peripheral part of the solid matrix, and
- transfer of the solute to the heart of the liquid phase (by diffusion or convection).

The duration of solid-liquid extraction is determined by the slowest stage that controls the operation speed. Most often, it is the stage of internal diffusion in the plant matrix. The extraction consists of solubilizing and detaching the desired compound from the matrix in a reasonable time and in a satisfactory proportion (Perino-Issartier et al., 2010). However, the

process can sometimes be difficult and highly dependent on the complexity and geometry of the molecule and on the technique used.

The nature of the solvent, extraction pH, surface exchange of solid phase, temperature, stirring, solvent-to-solid ratio, extraction time are some parameters influencing liquid-solid extraction.

There are several techniques for extracting high value-added products from plants. These techniques can be called conventional (based on classical mechanisms of extraction) or innovative (developed more recently and involving different mechanisms). Conventional techniques include Soxhlet extraction, maceration, and steam distillation (hydrodistillation). In the innovative technical category, MW-assisted extraction (MAE), ultrasound assisted extraction, accelerated solvent extraction, and supercritical fluids extraction can be cited.

1.6.2 Microwave-assisted extraction principles

MAE was first used in chemical laboratories in 1986 by Gedye et al., (1986) and Giguere et al., (1986) in organic synthesis and by Ganzler et al., (1986) in the extraction of biological matrices. This nonconventional thermal energy source has an enormous potential for synthetic, analytical and processing applications.

In a conventional solvent extraction (CSE), mass transfers and temperature gradients are in opposite directions. Mass transfer takes place from inside outwards, while the temperature gradients occur from the outside to the inside (conduction heating). For solvent extraction assisted by MW, heat and mass transfer operate in the same direction due to volumetric heating (Chemat et al., 2009). Process intensification using MW heating may be due to a synergistic combination of heat and mass transfers.

The energy of the EMW is dissipated in heat within the lossy material according to the distribution of the electromagnetic field (Luque de Castro and Castillo-Peinado, 2016). The amount of MW energy absorbed by a specific sample depends on its loss factor that is finite for absorptive materials. When the loss factor of vegetal material is higher than the solvent's, the plant material can reach higher temperature than the solvent, and consequently, the inside cell pressure increases resulting in the rupture of cell's membrane and release of the

components into the solvent. The reverse situation is also possible in which the solvent is polar and absorbs the energy of the waves. In this case the plant material is heated by conduction, and the release of the matrix components follows the same mechanisms. The effect of MWs on chemical or biochemical reactions is considered generally strictly thermal (Chemat et al., 2009), but this point is a contentious issue. Some studies relate indeed non-thermal effects of MWs. This point is addressed in section I.7.

MWs have the particularity of instantaneously heating polar substances such as water. Under the effect of EMWs, the intra-cellular liquid heats up. This sudden increase in temperature implies an increase of internal pressure and generates the bursting of the cell walls. It follows the release of the metabolites of interest. In food products, it is mainly water molecules that are concerned by this phenomenon but many other polar molecules also absorb MWs (alcohol, sugars, amino acids, etc.). Thus MW extraction without addition of solvent is possible induced by the deterioration of cellular membranes under the effect of rapid temperature elevation.

As a consequence, MAE can be divided in two main categories that are MW-assisted solvent extraction (MASE) and solvent-free MW extraction. Falling into these categories, one finds several derived techniques that are listed in Table I.4 using two different methods:

- distillation that is used for separating constituents of a mixture by boiling and
- hydrodiffusion that consists of heating a product without addition of solvent and in recovering the condensed vapor containing the extract by gravity.

1.6.2.1 Influencing factors

A lot of variables influence MAE, such as MW power output, exposure time, sample size, product moisture, solvent viscosity, and the type of solvent as well as a solvent-to-solid ratio (Luque de Castro and Castillo-Peinado, 2016), (Vinatoru et al., 2017). The rate of temperature increases depending on the MW power and the dielectric loss factor of the material being irradiated (Zill-E-Huma, 2010). A rapid temperature increase represents a huge advantage because high temperatures (>90°C) might inhibit enzymes activity and consequently molecules oxidation. Processing time has to be controlled to avoid degradation of thermolabile compounds.

For optimal extraction, a balanced combination of moderate ϵ' to promote the penetration of wave in the product and high loss (maximum ϵ'') is required. The temperature dependence of the factor loss causes and increase of the penetration with temperature (water, $f = 2.45\text{GHz}$: $T = 25^\circ\text{C}$, $D_p = 3.4\text{cm}$; $T = 95^\circ\text{C}$; $D_p = 14\text{cm}$) (Datta, 2001).

I.6.3 Microwave-Assisted Extraction Techniques

This first use of MWs in the field of extraction by Ganzler et al., (1986) marked the beginning of an expansion. The following different processes have been developed in order to counteract the limitations of conventional extraction techniques. These innovative techniques can use solvents (MASE) (Paré, 1992), water (MAD: Hydrodistillation by MWs) (Stashenko et al., 2004), or directly intracellular water of the plant (SFME) (Lucchesi et al., 2004). They can also use gravity [MW hydrodiffusion and gravity (MHG)] (Vian et al., 2008), use in combination water vapor (MSD) (Farhat et al., 2009), and combine Soxhlet (Virost et al., 2008) or Dean Stark method (Veillet et al., 2010). Other techniques are emerging consisting in superimposing another physical mechanism to these various extraction methods (vacuum, addition of water vapor, addition of extraction cycles, ultrasounds, centrifuge force, etc.). The extraction methods depend highly on the properties of the extracted compound. Extraction proceeds, generally, as follows. The sample is loaded into a support and in the case where an extraction solvent is present, it is added until immersion of the sample. It is heated until the explosion of its cells using MWs. The vapors are then condensed, and the extract is recovered in a suitable container (Florentine vase, balloon, Erlenmeyer flask, etc.).

The major MW extraction techniques are listed below Table I.4:

Table I.4: Classification of extraction techniques and some examples of application.

Type of extraction		Acronym of the technique	Principle	Vegetable matrix	Targeted compound	Industrial or laboratory scale	References
solvent extraction		MASE	Diffusion between a solvent and a matrix	Tomato, olive pomace oil	Phenolic acids and flavonoids, carotenoids,	Lab ; batch	Tomato : (Pinela et al., 2016) Olive pomace oil :(Yanik, 2017)
		VMASE	Vacuum MASE	Oleaginous <i>Yarrowia lipolytica</i>	Lipids	Lab ; batch	(Meullemiestre et al., 2016)
		MISE	Soxhlet extraction combined with MW	Olive seeds	Oil	Lab ; batch	(Virost et al., 2007)
	Distillation	CAMD	Addition of compressed air	<i>Lippia sidoides</i> Cham leaves	Essential oils	Lab ; batch	(Craveiro et al., 1989)
		MWHD	Hydrodistillation combined with MW	Cinnamomum	Essential oils	Lab ; batch	(Jeyaratnam et al., 2016)
		VMHD	Vacuum MWHD	Cassia bark	Essential oils	Lab ; batch	ARCHIMEX
		MASD	Steam distillation combined with MW	Lavandin	Essential oils	Lab ; batch	(Périno-Issartier et al., 2013)
hydrodiffusion	MSDf	MASD but steam injection by the top of the reactor	Orange peels	Essential oils	Lab ; batch	(Farhat et al., 2011)	
solvent free	Distillation	SFME	Similar to MWHD without an addition of the solvent	Sea Buckthorn	Polyphenols, HE	Lab ; batch	(Perino-Issartier et al., 2011)
		VSFME	Solvent free VMHD (sequential vacuum between 100 and 200 mbar)	Lavandin	Essential oils	Lab ; batch	(Périno-Issartier et al., 2013)
		ISFME	SFME with the addition of material absorbing MW (graphic powders or ionic liquids)	<i>Zingiber officinale</i> Rosc.	Essential oils	Lab ; batch	(Wang et al., 2006)
	hydrodiffusion	MHG	Recover extract by gravity (mixture of HE and internal water of matrix)	Broccoli; lettuce	Essential oils	Lab ; batch industrial	(Ferreira et al., 2018; Périno et al., 2016)
		VMHG	Vacuum MHG	Onion	Flavonoids		(Abert-Vian et al., 2011)

CAMD, Compressed air microwave distillation; ISFME, improved solvent-free microwave extraction; MASD, microwave-assisted steam distillation; MASE, microwave-assisted solvent extraction; MHG, microwave hydrodiffusion and gravity; MISE, microwave-integrated Soxhlet extraction; MSDf, microwave steam diffusion; MWHD, microwave hydrodistillation; SFME, solvent-free microwave extraction; VMASE, vacuum microwave-assisted solvent extraction; VMHD, vacuum microwave hydrodistillation; VMHG, vacuum microwave hydrodiffusion and gravity; VSFME, vacuum solvent-free microwave extraction;

1.6.3.1 Advantages of microwave-assisted extraction over conventional techniques

Specificity of dielectric heating provides MW extraction with many interesting features compared to conventional methods. In many comparative studies the advantages of MW extraction were underlined, such as a gain of extraction time, a high quality of product obtained combined with a gain of energy. Some examples are exposed in the following.

MAE with solvent (Ethanol/water/TFA) method was used and compared with a CSE technique to yield anthocyanins from *Morus Nigra L.* (MN) (Koyu et al., 2018). The MW procedure showed a higher yield of anthocyanins from MN with an MW power between 300 and 500 W and extraction times up to 10 min. However, a remarkable decline was observed in anthocyanins content after 15 min of extraction indicated that the prolonged temperature exposition might cause reduction in targeted bioactive metabolites. Furthermore, total phenol, anthocyanin (12.63 mg/g cya-3-glu equiv. anthocyanins), and tyrosinase inhibitory activity (IC₅₀ value of 1.60 mg/mL) were better compared to the values obtained with solvent extraction (10.93 mg/g content and IC₅₀ of 2.81 mg/mL, respectively), whereas similar results were attained for flavonoid content. Koyu et al., (2018) concluded that the superiority of MAE over conventional systems was majorly explained with the shortening of process time that limits degradation of active components. A reduction of extraction time from 300 to 10 min and a solid-to-solvent ratio from 1:60 to 1:10 were observed. Moreover, these parameters allowed to halve the tyrosinase inhibitory activity.

Pandey and Shrivastava, (2018) exploited a two-step MAE (TSM AE) to enhance oil yield from rice bran. This technique consists of treating a vegetable matrix in an MW oven at a selected power time followed by solvent washing outside the MW oven (first step). Then the rice bran was again placed in MW oven and the first step was repeated. In this study the total oil content of rice bran as obtained from Soxhlet extraction was found to be 162.8 ± 0.76 mg/g (extraction time: 4 h). With TMSAE, more oil was recovered (~97%) in shorter extraction time (8-10 min). Furthermore, the phospholipid content of oil and peroxide value in TSM AE were found to be significantly lower than with the CSE method ($0.64 \pm 0.11\%$ vs $1.02 \pm 0.15\%$). This result is explained by the longer extraction time in CSE compared to TSM AE during which more phospholipids were extracted from the cell membranes. It can be observed that in CSE more

than 95% of oil was recovered after 20 min, whereas the same quantity could be recovered in <10 min in TSMAE. Moreover, oil quality obtained from TSMAE process was superior as oil obtained by CSE and there was no significant difference in the overall change in color between the oil extracted by MW and solvent extraction.

As a final example, MHG dehydration extraction technique was used to recover phenolic compounds and polysaccharides from Broccoli (Ferreira et al., 2018) and to dehydrate broccoli. This technique was compared with hot water extraction. For dehydration purposes (drying), MHG allowed to drop the moisture of broccoli byproducts down to 12 % without affecting polysaccharides and protein content. The washed-out solutes obtained by MHG represented only 4.4% per dry weight of broccoli by-products indicating that the most bioactive compounds of broccoli matrix are still present in dried by-product. Furthermore, a total of 76% of pectic polysaccharides were extracted by MHG dehydration technique as compared to 60% with hot water extraction. The authors point out another advantages, such as filtration and concentration steps, are not required unlike with aqueous/solvent extractions.

According to Ferreira et al., (2018), MHG technology has also potential for the valorization of industrial by-products. In this study the combined MHG extracts were used to cook up a bechamel sauce where the added water is replaced by the aqueous extract of broccoli. The purpose was to enrich the sauce with bioactive compounds extracted from broccoli. The authors did not notice any taste modification, and the characteristic of bechamel sauce were maintained.

To say a few word about energy consumption, Zill-E-Huma, (2010) compared two extractions techniques such as Soxhlet (conventional extraction) and MW-integrate Soxhlet (MIS) extraction for extraction of compounds from different varieties of onions. Combined with a marked reduction of extraction time, the author measured an energy consumption of 8 kWh for Soxhlet extraction and of 0.5 kWh for MIS.

I.7 Environmental impact

I.7.1 Introduction

More than 130 million MW systems are affected the EU legislation that focuses on their life cycle. Nevertheless, there is little information on the environmental impacts (eutrophication and acidification of natural systems, primary energy demand, global warming, ozone layer depletion, etc.) of the entire life cycle of MW systems. A recent paper (Gallego-Schmid et al., 2018) gives the results of a comprehensive environmental evaluation of MW systems across the whole life cycle and claims that the electricity consumption is the main contributor to the environmental impacts. The manufacturing of MWs and end-of-life disposal have also a relevant contribution and eco design is promoted. Some user practices are encouraged, for example, the adjustment of heating time to each type of material.

The evaluation of environmental impacts requires a rigorous and standardized methodology. A recognized methodology is life cycle assessment (LCA) defined by ISO 14040/44 as the "compilation and evaluation of the inputs, outputs and potential environmental impacts of a product system throughout its life cycle" (ISO, 2006a and 2006b ; Bisinella de Faria et al., 2015). LCA enables calculating the environmental impacts of a product, process or service over its entire life cycle (from cradle to grave) or for limited boundaries of the life cycle system, for example, cradle to gate (from natural resources to the output of the plant). The environmental impacts are classified in different impact categories (e.g., climate change, resource depletion, and human health.) and are assessed quantitatively starting from the life cycle inventory (LCI) of the system (natural resources consumption and hazardous substance emissions toward environment) and using specific impact assessment methods.

The studied products and processes have to be comparable in order to derive consistent (unbiased) results, that is, they have to fulfil the same function or to respond to the same need on the market. Some classical approaches assess this comparison according to mean values. In the case of food processes the resulting outputs from alternative processes may have different composition, nature, and quality, and consequently, innovative approaches have to be considered.

New LCA approach offers the capability to analyze the environmental performances of an industrial process at different levels, that is, for the unit processes, background life cycle

processes, distinct periods, or the whole life of a plant, etc. It shall demonstrate the impact of a new unit in the overall process, in comparison with the classical process at a scale, close to the industrial unit. The proof of concept of this new LCA approach has already been validated in the field of water treatment processes (Mery et al., 2013), (Bisinella de Faria et al., 2015). The environmental impact determination of MW technology in food processing is generally few documented and there is a lack of data to have a global view on the environmental impact of MW technology comparing to other technologies used classically in food industry.

In this chapter, we propose to describe the methodology to compare the environmental impact of implementation of targeted processes comparing to classical ones, illustrated by some examples found in literature comparing MW applications in food industry.

The methodology is applied in four steps, they are as follows: (1) the definition of goal and scope, (2) the building of LCI, (3) the life cycle Impact assessment, and (4) the interpretation of results.

1.7.2 Goal and Scope

The goal of the study must be specified including the following aspects Table I.5 gives some examples of “expression of the need” for comparison of MW operations to conventional techniques.

Table I.5: Fundamental aspects of LCA evaluation of microwave (MW) processes in comparison to classical ones.

Case number	Process investigated (1)	Reference process (2)	Process function	Reference unit	Boundaries of life cycle system	Process location	Reference
A	MW drying	Oven drying and vacuum drying	Drying rate for 1 kg of water evaporated	Olive leaves	Modelization (14 empirical equations for drying behavior)	Turkey	(Elhussein and Şahin, 2018)
B	MW defrosting and tempering	Hot air defrosting	Temperature increase until 0°C in the whole unit, without ice traces	Beef Meat (1 kg ou 1 ton)	Defrosting tunnels pilots	Ireland	(Farak et al., 2008)
C	MW bleaching	Immersion in boiling water	Highest scores in color intensity	Brassica vegetables (broccoli, brussels sprout, etc.)	Lab tests	Worldwide	(Guo et al., 2017)
D	Homemade meal made from conventional ingredients and heated in an MW	Frozen ready-made meal made from frozen ingredients heated in the electric oven	Preparation and consumption of a meal of 360 g (roast dinner) for one person	Chicken meat and three vegetables (potatoes, carrots and peas) and tomato sauce	Oven	Domestic (Home) in the United Kingdom	(Rivera and Azapagic, 2016)
E	MW stabilization and conservation	Freeze-drying	Preservation of the nutritional quality and color during 4 months of storage	15-45 kg of fresh mealworms	Pilot and industrial dryers	Belgium	(Lenaerts et al., 2018)
F	MW extraction (MISE)	Solvent extraction (soxlet)	Yield of antioxidant (targeted value)	Plants (onions)	Lab/Batch	France	(Zill-E-Huma, 2010)

1.7.2.1 Life cycle inventory

By definition, LCI is the compilation and quantification of all natural resources consumed and all substances emitted into environment by the life cycle system (emissions and resources). LCIs are traditionally based on the average data of material and energy inputs and outputs collected on industrial site or estimated from literature or from modeling studies performed prior to the LCA study. In order to build a LCI, all inputs and outputs of each process must be quantified, and all processes of the life cycle system must be considered. The process should be placed at an industrial scale such that the modelled system is as close as possible to a real industrial process. In the case of ongoing development and low technology readiness level (TRL) of a new process, a scale-up modeling should be performed in order to calculate material and energy flows for the desired real scale. The LCI step is the most important in terms of invested work and time, and also the most influencing on the final results.

Table I.6 gives one example for case number D (Table I.5) comparing MW process (D1) to reference process (D2) to illustrate the methodology highlighting that a homemade meal made from conventional ingredients and cooked in a MW could be a better option than a frozen ready-made meal made from frozen ingredients heated in an electrical oven, considering the life cycle and environmental impacts. Other examples could be found in MW drying, defrosting (tempering), bleaching, pasteurization/sterilization and extraction in comparison to conventional techniques; but it is difficult to find fully documented comparison in literature, especially at industrial scale. However, these findings could be useful to inform both producers and consumers on how their choices influence costs and environmental impacts of food.

Table I.6: Life cycle inventory for Case Number D (see Table I.5).

Case Number	Resources (input)				Emissions (outputs)			
	Power	Water (process)	Raw materials (e.g. chemicals)	Others (e.g. transportation)	Gas (e.g. CO ₂ , NO _x , SO _x , VOC)	Wastewater	Solid wastes	Others (e.g. packaging)
D1	0.39 Kwh/meal	Water for preprocessing: 1.36 L Steam: 54 kJ	151 g chicken 110 g potatoes, 44 g carrots, 44 g peas, 36 g onions, 44 g tomato paste, 1 g salt, 9 g vegetable oil	Transportation: 79.3 km.kg (regional distribution center for products)	Natural gas - distribution: (20 kJ) Preprocessing (54 kJ)	Wastewater: 4.05 L	Food waste: 120 g Waste transportation: 3.51 km.kg Meat losses: 43 g Vegetable losses: 47 g	Plastic bag: 10g Tin: 8 g Cardboard: 1.81 g LDPE: 10 g
D2	2.03 KWh/meal	Water for preprocessing: 1.46 L Steam: 58 kJ Water for manufacturing: 4.4 L	162 g chicken, 125 g potatoes, 50 g carrots, 50 g peas, 40 g onions, 53 g tomato paste, 1 g salt, 9 g vegetable oil	Transportation: 87.6 km.kg (regional distribution center for products) 40 mL fuel oil for manufacturing	Natural gas - preprocessing (59 kJ)	Wastewater: 0.9 L for consumption Wastewater for manufacturing: 3.96 L	Food waste: 86 g Waste transportation: 3.66 km.kg Meat losses: 43 g Vegetable losses: 43 g	Plastic packaging: 45 g Cardboard: 22 g LDPE: 11 g PE: 36 g Steel: 6 g

LDPE: Low Density PolyEthylene; VOC, volatile organic compound

The study could be further investigated by “pushing the boundaries”, considering a complete environmental evaluation of the MWs across the whole life cycle in Europe, considering the production of materials, packaging, manufacturing of MWs, distribution, use of electricity, end-of life waste treatment for an MW oven (Gallego-Schmid et al., 2018).

1.7.2.2 Life cycle impact assessment

In this step the LCI is converted in environmental impacts by impact category. There are many impact categories following the environmental problems and damages of concern, for example, climate change, human toxicity, respiratory effects, ozone layer depletion, acidification, eutrophication, natural resources depletion, etc. Each substance in LCI is responsible to at least one impact category, for example, NO_x emitted in air are responsible for respiratory effects, acidification and eutrophication.

Environmental models were used to determine specific parameters named characterization factors (CFs) that quantify the effect of a substance in a given impact category.

The impact result is proportionally linked to the mass of the emitted substance by using CFs as proportionality constants. For a given substance *s* the obtained impact value (*I*) of a given impact category *k* is:

$$I_{s,i,k} = g_{s,i} CF_{s,i,k}$$

where index *i* represents the emission compartment (e.g. air, water), *g* represents the quantity of substance *s* in the LCI, and CF is the characterization factor for that substance emitted in compartment *i*, for the impact category *k*.

Fortunately, it is not necessary to calculate these CFs since they are available with LCA software and on Ecoinvent database website. Moreover, many impact calculation methods currently exist, which delivers CF based on various environmental modeling approaches and hypotheses, for example, ReCiPe (Bisinella de Faria et al., 2015) and Impact2002+ (Mery et al., 2013) for cite the most currently used ones.

The complete analyses of LCA and LCI, fully completed by data provided by tests at pilot and industrial scale, are necessary to have a good overview of environmental gains brought by the replacement of classical technology by a new one.

1.7.2.3 Results interpretation

In this last step the impact calculation results are analyzed and the information is structured in order to obtain a fully understanding of the studied system. LCA results are of multicriteria as many environmental impact categories are calculated.

Mainly two kinds of information can be derived from a usual LCA application, which are as follows:

Comparison of several alternatives, that is, comparison of a new process with a reference one
Identification of hot spots of a process life cycle system, that is identification of the part of a system where the impacts are generated and the substances in question.

These interpretations can be done at the level of each impact category (this is the best way of interpretation) and at the level of aggregated impact results when the method permits to calculate a single indicator by regrouping all impact categories. This last option is less relevant since the aggregation of all impact categories is source of information loss and distortion.

1.8 Regulation and Security

As presented earlier, MWs are used in many food applications. This utilization implies specific risks that need to be defined and controlled. To ensure a safe production in food industry, various methods exist to identify the occurrence of possible risks (Mortimore and Wallace, 2013). The concepts of HACCP (hazard analysis and critical control points) and HAZOP (hazard and operability analysis) are used to ensure food safety and to optimize the efficiency and risks management related to manufacturing, staff, and environment.

1.8.1 Hazard analysis and critical control points approach

1.8.1.1 Principles

The HACCP system is depending on the process control of food processing, it is established on the basis of food safety programs. With such a system, known hazards according to a process can be prevented and reduced to an acceptable level. This method ensures food safety and hygiene at all levels of production by applying a hazard assessment methodology (Datta and Davinson, 2000; Mortimore and Wallace, 2013) HACCP system is based on seven principles.

It has been defined by directive 43/93/EEC of 14/06/1993 now converted as part of food in EC Regulation 852/2004 (Ayappa et al., 1991; Chemat and Cravotto, 2013).

1.8.1.2 Application of hazard analysis and critical control points system to microwave technology – evaluation of risks

The chemical hazards involved during an MW process are the appearance of dangerous chemical compounds, such as acrolein, acrylamide or heterocycles amines. Furthermore, other chemicals, such as the carcinogen DEHA [bis(2-ethylhexyl) adipate] found in polyvinyl chloride films can migrate from packaging into food during MW treatment. However, the amount of this substance is not significant, except for certain conditions (Hill, 1998; Scubert & Regier, 2005).

Microbial hazards are one of the main concerns for food industry. Indeed, raw materials may contain microorganisms and pathogens. According to storage conditions, the risk of pathogen exposition for consumers can increase. To avoid a cross-contaminations problem, MW machines used for food processes have to be cleaned properly, disinfected, and rinsed. Finally, packaging line, storage conditions, and hygiene staff must be controlled properly to prevent recontamination.

1.8.1.3 Hazard and operability analysis approach

The HAZOP method allows to control the identifiable hazards that may be harmful to personnel, environment, processing operations or equipment. The investigation consists of examining potential deviations of operations from defined conditions that could create process-operating problems and hazards (Rossing et al., 2010). It is designed in order to optimize the food process and to obtain a better performance. The HAZOP system is based on eight principles. HAZOP system can be used to complete HACCP program.

1.8.1.4 Using of hazard analysis and critical control points and hazard and operability analysis systems in food industry

To ensure food and staff safety, HACCP and HAZOP methods have to be applied correctly during MW processes. HACCP allows to determine physical, chemical, and biological hazards on food safety, and HAZOP is employed to identify necessary actions to ensure staff and material safety. Frequency, power, and treatment time of MWs are linked to HACCP method.

The process and electromagnetic field exposition issues are linked to HAZOP system (Perino and Chemat, 2015).

1.8.1.5 Quality assurance in microwave food processing

In MW food processing, few reviews exist on quality assurance. Many aspects are examined by Atuonwu and Tassou, (2018), concerning the effects of MWs on food products. Thermal effects can be evaluated in term of the inactivation of microorganisms/enzymes and degradation of relevant nutritional and sensory quality variables. Nonthermal effects are still a subject of intense debate (Chandrasekaran et al., 2013).

The major question is to determine if MWs can have an effect on molecules or not. Most scientists agree that the energy of the MW photon is far too low to directly cleave molecular bonds (Kappe et al., 2013). In many cases, experimental artifacts were mainly a consequence of erroneous temperature measurements of the product.

Other studies (De la Hoz et al., 2005), show that the effect of electromagnetic field has not been elucidated conclusively. It is a very complex irradiation involving thermal (hot spots, superheating) and nonthermal (molecular mobility, field stabilization) effects.

The absence of heating uniformity is partially responsible of the limited application of MW heating in food industry (Atuonwu and Tassou, 2018).

1.8.1.6 Microwave oven safety

Nowadays, MWs oven is an indispensable tool present in every kitchen. It is rapid for reheating food. However, some questions may be raised linked to food safety such as microbiological hazards. A study was carried out by (New et al., 2017), to gauge the knowledge and practice of MW oven Malaysian consumers. The result revealed that consumers have not a deep knowledge of how to use MW oven. For the betterment of the public health the knowledge on MW oven safety has to be improved and integrated in the food safety educational programs. Consumers of MW oven have to use MW-safe cookware because certain plastic containers are not advisable to be used with MW. Indeed, some plastic additives could be

migrated into the food at high temperatures. In some cases, damage of MW oven can occur if consumers use metal cookware or aluminum foil and arcing (sparks) can be observed.

1.9 Upscaling and its applications in industry

Several industrial applications use MWs around the world for food applications, such as drying, thawing, cooking, blanching, pasteurization, or sterilization as described earlier. The following examples in food processing have been provided by SAIREM SAS (Neyron, France) that has 40 years of experience in MW and radio RF engineering, bespoke electronic design, application development, process design, and production of a standardized range of MW generators. Table I.7 shows that MW-assisted processes have a very short processing time, allow continuous mode operation, and present economic advantages, in most of the cases, as compared to conventional processes.

Table I.7: Examples of industrial microwave applications.

Applications	Product	Microwave device	Capacity – Energy consumption	Time	Electric coast
Microwave tempering	Frozen blocks (meal, poultry, fish, seafood, butter, fruits, and vegetables)	TM150 Power: 75 kW	2 - 3 tons/h from --20°C to -4/-2° Energy: 100kVA/h	5 - 10 min from -20°C to -4/-2°C	3 - 4 euros/tons
Classical tempering (thawing room)				Between 48 and 72 h for 20 cm thick blocks Between 8 and 12 h for 8 cm thick blocks	9 - 12 euros/tons
Preheating (from +10°C to +70°C)	Spring rolls	Power: 40kW	5000 spring rolls/h Energy: 60 kVA/h	1 min before pre-frying in oil Advantage (only 2 min in oil instead of 6 min: less oil in final product and oil economy)	6 euros/h
Continuous cooking	Ham, sausage	High frequency: 50 kW Continuous cooking	500 - 600 kg/h	1 - 2 min	1.50 euro for 100 kg/h
Classical cooking (cooking room)					1 - 2 hours

Nowadays, the world’s largest market for MWs and high frequency is tempering of frozen blocks (meat, poultry, fish, seafood, butter, fruits, and vegetables). But other domains using MW food processes are in development, such as in pasteurization, debacterization, disinsectization, and liquid treatment. MW can be used for liquid treatment and pumpable products such as marmelade before potting (2 tons/h). The process can be used in continuous way. Another application is the disinsectization of dry products (dried fruits, flour, semolina, etc.). MWs have a major advantage compared to other conventional techniques (steam, CO₂, freezing): the process is adapted to product packaged in bags of 1 - 25 kg and can be applied in very short times in continuous operation.

Concerning MAE, the field is under development, a lot of devices at laboratory scale exist and some at industrial scale. Archimex, SAIREM, Milestone are some companies, which develop new MW extraction systems.

I.10 Future trends

In the early 1980s, future trends for MW use were to develop this technology very shortly in most of food industries. It was maintained in the 1990s. From years 2000 evolution of MW technology is more considered a part of a process. Most of publications include MW systems as a part of complex processes. It is considered a mean of improving existing process by reducing time, increasing or maintaining the quality product, or sometimes reducing energy costs. Nowadays, despite the fact that the first industrial applications date back many years, most of textbooks treating of MWs industrial techniques underline the needs of research effort. MWs sources will benefit in the developments of semiconductors manufacturing, which have led to solid-state MW generators showing many advantages compared to magnetrons (Schubert and Regier, 2005). The complex phenomena involved in the conversion of electromagnetic energy into heat, in a heterogeneous media, explain the need of improvement of numerical tools to simulate both electric and temperature fields in the product. Accurate simulations will help the design of MW devices and will contribute to operate MWs in optimized conditions improving the quality of the product (mitigating the nonheating uniformity, for example). For energy intensive processes as drying the advantages of dielectric heating should lead to the emergence, in industry, of combined techniques involving MWs.

I.11 Références

- Abert-Vian, M., Elmaataoui, M., Chemat, F., 2011. A novel idea in food extraction field: study of vacuum microwave hydrodiffusion technique for by-products extraction. *J. Food Eng.* 105, 351–360.
- Aguilar-Reynosa, A., Romaní, A., Ma. Rodríguez-Jasso, R., Aguilar, C.N., Garrote, G., Ruiz, H.A., 2017. Microwave heating processing as alternative of pretreatment in second-generation biorefinery: An overview. *Energy Convers. Manag.* 136, 50–65.
- Albaali, G., A. A. G., & Farid, M. M., 2006. Thermal sterilization of food historical review. In *Sterilization of Food In Retort Pouches*. Food Engineering Series, MA: Springer, Boston.
- Atuonwu, J.C., Tassou, S.A., 2018. Quality assurance in microwave food processing and the enabling potentials of solid-state power generators: A review. *J. Food Eng.* 234, 1–15.
- Ayappa, K.G., Davis, H.T., Crapiste, G., Davis, E.A., Gordon, J., 1991. Microwave heating: an evaluation of power formulations. *Chem. Eng. Sci.* 46, 1005–1016.
- Aydinkaptan, E., Mazi, B.G., Mazi, I.B., 2017. Microwave Heating of Sunflower Oil at Frying Temperatures: Effect of Power Levels on Physicochemical Properties. *J. Food Process Eng.* 40, e12402.
- Azam, S.M.R., Zhang, M., Law, C.L., Mujumdar, A.S., 2018. Effects of drying methods on quality attributes of peach (*Prunus persica*) leather. *Dry. Technol.* 0, 1–11.
- Barutçu Mazi, I., Mazi, B., 2017. Mikrodalgada Kızartmanın Tavuk Göğüs Eti Miyofibriler ve Sarkoplazmik Proteinleri Üzerine Etkileri. *Üzüncü İl Üniversitesi Tarım Bilim. Derg.* 496–506.
- Bisinella de Faria, A.B., Spérandio, M., Ahmadi, A., Tiruta-Barna, L., 2015. Evaluation of new alternatives in wastewater treatment plants based on dynamic modelling and life cycle assessment (DM-LCA). *Water Res.* 84, 99–111.
- Bonilla, F., Mayen, M., Merida, J., Medina, M., 1999. Extraction of phenolic compounds from red grape marc for use as food lipid antioxidants. *Food Chem.* 66, 209–215.
- Bornhorst, E.R., Liu, F., Tang, J., Sablani, S.S., Barbosa-Cánovas, G.V., 2017. Food Quality Evaluation using Model Foods: a Comparison Study between Microwave-Assisted and Conventional Thermal Pasteurization Processes. *Food Bioprocess Technol.* 10, 1248–1256.

- Bornhorst, Ellen R., Tang, J., Sablani, S.S., Barbosa-Cánovas, G.V., 2017. Thermal pasteurization process evaluation using mashed potato model food with Maillard reaction products. *LWT - Food Sci. Technol.* 82, 454–463.
- Brody, A.L., 2011. Advances in microwave pasteurization and sterilization. *Food Technol.* 65, 83–85.
- Cao, H., Fan, D., Jiao, X., Huang, J., Zhao, J., Yan, B., Zhou, W., Zhang, W., Zhang, H., 2018. Heating surimi products using microwave combined with steam methods: Study on energy saving and quality. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 47, 231–240.
- Chandrasekaran, S., Ramanathan, S., Basak, T., 2013. Microwave food processing—A review. *Food Res. Int.* 52, 243–261.
- Chemat, F., Abert-Vian, M., Huma, Z., 2009. Microwave-assisted separations: green chemistry in action, in: *Green Chemistry Research Trends*. Nova Science Publishers, New York, NY, pp. 33–62.
- Chemat, F., Cravotto, G. (Eds.), 2013. *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds*, Food Engineering Series. Springer US, Boston, MA.
- Chen, F., Warning, A.D., Datta, A.K., Chen, X., 2016. Thawing in a microwave cavity: Comprehensive understanding of inverter and cycled heating. *J. Food Eng.* 180, 87–100.
- Craveiro, A.A., Matos, F.J.A., Alencar, J.W., Plumel, M.M., 1989. Microwave oven extraction of an essential oil. *Flavour Fragr. J.* 4, 43–44.
- Cuccurullo, G., Berardi, P.G., Carfagna, R., Pierro, V., 2002. IR temperature measurements in microwave heating. *Infrared Phys. Technol.* 43, 145–150.
- Datta, A.K., 2001. *Handbook of Microwave Technology for Food Application*. CRC Press.
- Datta, A.K., Davidson, P.M., 2000. Microwave and Radio Frequency Processing. *J. Food Sci.* 65, 32–41.
- De la Hoz, A., Díaz-Ortiz, Á., Moreno, A., 2005. Microwaves in organic synthesis. Thermal and non-thermal microwave effects. *Chem Soc Rev* 34, 164–178.
- Devi, S., Zhang, M., Law, C.L., 2018. Effect of ultrasound and microwave assisted vacuum frying on mushroom (*Agaricus bisporus*) chips quality. *Food Biosci.* 25, 111–117.
- Dibert, K., Cros, E., Andrieu, J., 1989. Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee. Part II: kinetic data. *J. Food Eng.* 10, 199–214.

- Elhussein, E.A.A., Şahin, S., 2018. Drying behaviour, effective diffusivity and energy of activation of olive leaves dried by microwave, vacuum and oven drying methods. *Heat Mass Transf.*
- Farag, K.W., Lyng, J.G., Morgan, D.J., Cronin, D.A., 2008. A comparison of conventional and radio frequency tempering of beef meats: Effects on product temperature distribution. *Meat Sci.* 80, 488–495.
- Farhat, A., Fabiano-Tixier, A.-S., El Maataoui, M., Maingonnat, J.-F., Romdhane, M., Chemat, F., 2011. Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: kinetic data, extract's global yield and mechanism. *Food Chem.* 125, 255–261.
- Farhat, A., Ginies, C., Romdhane, M., Chemat, F., 2009. Eco-friendly and cleaner process for isolation of essential oil using microwave energy: experimental and theoretical study. *J. Chromatogr. A* 1216, 5077–5085.
- Ferreira, S.S., Passos, C.P., Cardoso, S.M., Wessel, D.F., Coimbra, M.A., 2018. Microwave assisted dehydration of broccoli by-products and simultaneous extraction of bioactive compounds. *Food Chem.* 246, 386–393.
- Franco, A.P., Tadini, C.C., Wilhelms Gut, J.A., 2017. Predicting the dielectric behavior of orange and other citrus fruit juices at 915 and 2450 MHz. *Int. J. Food Prop.* 1–21.
- Fu, Y.-C., 2008. Fundamentals and Industrial Applications of Microwave and Radio Frequency in Food Processing, in: *Food Processing*. Wiley-Blackwell, pp. 79–100.
- Gallego-Schmid, A., Mendoza, J.M.F., Azapagic, A., 2018. Environmental assessment of microwaves and the effect of European energy efficiency and waste management legislation. *Sci. Total Environ.* 618, 487–499.
- Ganzler, K., Salgó, A., Valkó, K., 1986. Microwave extraction: A novel sample preparation method for chromatography. *J. Chromatogr. A* 371, 299–306.
- Gedye, R., Smith, F., Westaway, K., Ali, H., Baldisera, L., Laberge, L., Rousell, J., 1986. The use of microwave ovens for rapid organic synthesis. *Tetrahedron Lett.* 27, 279–282.
- Giguere, R.J., Bray, T.L., Duncan, S.M., Majetich, G., 1986. Application of commercial microwave ovens to organic synthesis. *Tetrahedron Lett.* 27, 4945–4948.
- Guo, Q., Sun, D.-W., Cheng, J.-H., Han, Z., 2017. Microwave processing techniques and their recent applications in the food industry. *Trends Food Sci. Technol.* 67, 236–247.
- Hill, A., 1998. Microwave ovens.

- Huang, Y.-F., Kuan, W.-H., Chang, C.-Y., 2018. Effects of particle size, pretreatment, and catalysis on microwave pyrolysis of corn stover. *Energy* 143, 696–703.
- ISO Standard 14040 (2006a) NF EN ISO 14040:2006 Environmental management - life cycle assessment - principles and framework. AFNOR.
- ISO Standard 14044 (2006b) NF EN ISO 14044:2006 Environmental management - life cycle assessment - requirements and guidelines. AFNOR
- James, S.J., James, C., Purnell, G., 2016. Microwave-assisted thawing and tempering, in: *The Microwave Processing of Foods: Second Edition*. pp. 252–272.
- Jeyaratnam, N., Nour, Abdurahman Hamid, Kanthasamy, R., Nour, Azhari Hamid, Yuvaraj, A.R., Akindoyo, J.O., 2016. Essential oil from *Cinnamomum cassia* bark through hydrodistillation and advanced microwave assisted hydrodistillation. *Ind. Crops Prod.* 92, 57–66.
- Ji, L., Xue, Y., Zhang, T., Li, Z., Xue, C., 2017. The effects of microwave processing on the structure and various quality parameters of Alaska pollock surimi protein-polysaccharide gels. *Food Hydrocoll.* 63, 77–84.
- Kala, H.K., Mehta, R., Sen, K.K., Tandey, R., Mandal, V., 2016. Critical analysis of research trends and issues in microwave assisted extraction of phenolics: Have we really done enough. *TrAC Trends Anal. Chem.* 85, 140–152.
- Kappe, C.O., Pieber, B., Dallinger, D., 2013. Microwave Effects in Organic Synthesis: Myth or Reality? *Angew. Chem. Int. Ed.* 52, 1088–1094.
- Karam, M.C., Petit, J., Zimmer, D., Baudelaire Djantou, E., Scher, J., 2016. Effects of drying and grinding in production of fruit and vegetable powders: A review. *J. Food Eng.* 188, 32–49.
- Kostas, E.T., Beneroso, D., Robinson, J.P., 2017. The application of microwave heating in bioenergy: A review on the microwave pre-treatment and upgrading technologies for biomass. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 77, 12–27.
- Koubaa, M., Mhemdi, H., Barba, F.J., Roohinejad, S., Greiner, R., Vorobiev, E., 2016. Oilseed treatment by ultrasounds and microwaves to improve oil yield and quality: An overview. *Food Res. Int.* 85, 59–66.
- Koyu, H., Kazan, A., Demir, S., Haznedaroglu, M.Z., Yesil-Celiktas, O., 2018. Optimization of microwave assisted extraction of *Morus nigra* L. fruits maximizing tyrosinase inhibitory activity with isolation of bioactive constituents. *Food Chem.* 248, 183–191.

- Lenaerts, S., Van Der Borght, M., Callens, A., Van Campenhout, L., 2018. Suitability of microwave drying for mealworms (*Tenebrio molitor*) as alternative to freeze drying: Impact on nutritional quality and colour. *Food Chem.* 254, 129–136.
- Liu, W., Lanier, T.C., 2016. Rapid (microwave) heating rate effects on texture, fat/water holding, and microstructure of cooked comminuted meat batters. *Food Res. Int.* 81, 108–113.
- Lucchesi, M.E., Chemat, F., Smadja, J., 2004. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *J. Chromatogr. A* 1043, 323–327.
- Luque de Castro, M.D., Castillo-Peinado, L.S., 2016. Microwave-Assisted Extraction of Food Components, in: *Innovative Food Processing Technologies*. Elsevier, pp. 57–110.
- Lv, H., Chen, X., Liu, X., Fang, C., Liu, H., Zhang, B., Fei, B., 2018. The vacuum-assisted microwave drying of round bamboos: Drying kinetics, color and mechanical property. *Mater. Lett.* 223, 159–162.
- Maurya, V.K., Gothandam, K.M., Ranjan, V., Shakya, A., Pareek, S., 2018. Effect of drying methods (microwave vacuum, freeze, hot air and sun drying) on physical, chemical and nutritional attributes of five pepper (*Capsicum annum* var. *annuum*) cultivars. *J. Sci. Food Agric.* 98, 3492–3500.
- Mery, Y., Tiruta-Barna, L., Benetto, E., Baudin, I., 2013. An integrated “process modelling-life cycle assessment” tool for the assessment and design of water treatment processes. *Int. J. Life Cycle Assess.* 18, 1062–1070.
- Metaxas, A.C., Meredith, R.J., 1983. *Industrial Microwave Heating*. IET.
- Meullemiestre, A., Breil, C., Abert-Vian, M., Chemat, F., 2016. Microwave, ultrasound, thermal treatments, and bead milling as intensification techniques for extraction of lipids from oleaginous *Yarrowia lipolytica* yeast for a biojetfuel application. *Bioresour. Technol.* 211, 190–199.
- Monteiro, R.L., Link, J.V., Tribuzi, G., Carciofi, B.A.M., Laurindo, J.B., 2018. Microwave vacuum drying and multi-flash drying of pumpkin slices. *J. Food Eng.* 232, 1–10.
- Mortimore, S., Wallace, C., 2013a. *HACCP: A practical approach*. Springer Science & Business Media.

- Mortimore, S., Wallace, C., 2013b. HACCP: A practical approach. Springer Science & Business Media.
- New, C.Y., Thung, T.Y., Premarathne, J., Russly, A.R., Abdulkarim, S.M., Son, R., 2017. Microwave oven safety: A food safety consumer survey in Malaysia. *Food Control* 80, 420–427.
- Pandey, R., Shrivastava, S.L., 2018. Comparative evaluation of rice bran oil obtained with two-step microwave assisted extraction and conventional solvent extraction. *J. Food Eng.* 218, 106–114.
- Pankaj, S.K., Keener, K.M., 2017. A review and research trends in alternate frying technologies. *Curr. Opin. Food Sci.* 16, 74–79.
- Paré, J.R.J., 1992. Microwave assisted process for extraction and apparatus therefore. *Can. Pat. CA 2055390*.
- Parikh, A., Takhar, P.S., 2016. Comparison of Microwave and Conventional Frying on Quality Attributes and Fat Content of Potatoes. *J. Food Sci.* 81, E2743–E2755.
- Peng, J., Tang, J., Luan, D., Liu, F., Tang, Z., Li, F., Zhang, W., 2017. Microwave pasteurization of pre-packaged carrots. *J. Food Eng.* 202, 56–64.
- Perino, S., Chemat, F., 2015. Chauffage micro-ondes comme éco-procédé en industrie agroalimentaire.
- Périno, S., Pierson, J.T., Ruiz, K., Cravotto, G., Chemat, F., 2016. Laboratory to pilot scale: Microwave extraction for polyphenols lettuce. *Food Chem.* 204, 108–114.
- Perino-Issartier, S., Abert-Vian, M., Chemat, F., 2011. Solvent free microwave-assisted extraction of antioxidants from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) food by-products. *Food Bioprocess Technol.* 4, 1020–1028.
- Périno-Issartier, S., Ginies, C., Cravotto, G., Chemat, F., 2013. A comparison of essential oils obtained from lavandin via different extraction processes: ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, steam and hydrodistillation. *J. Chromatogr. A* 1305, 41–47.
- Perino-Issartier, S., Maingonnat, J.-F., Chemat, F., 2010. Chapter 11: Microwave Food Processing, in: *Alternatives to Conventional Food Processing*. pp. 415–458.
- Pert, E., Carmel, Y., Birnboim, A., Olorunyolemi, T., Gershon, D., Calame, J., Lloyd, I.K., Wilson, O.C., 2001. Temperature Measurements during Microwave Processing: The Significance of Thermocouple Effects. *J. Am. Ceram. Soc.* 84, 1981–1986.

- Pham, Q.T., 2014. Modelling Coupled Phenomena, in: Pham, Q.T. (Ed.), Food Freezing and Thawing Calculations, SpringerBriefs in Food, Health, and Nutrition. Springer New York, New York, NY, pp. 95–131.
- Pinela, J., Prieto, M.A., Carvalho, A.M., Barreiro, M.F., Oliveira, M.B.P., Barros, L., Ferreira, I.C., 2016. Microwave-assisted extraction of phenolic acids and flavonoids and production of antioxidant ingredients from tomato: A nutraceutical-oriented optimization study. *Sep. Purif. Technol.* 164, 114–124.
- Poux, M., Estel, L., Len, C., 2016. Micro-ondes en synthèse organique. *Techniques de l'ingénieur*, Réf : J5020 v1.
- Pupan, N., Dhamvithee, P., Jangchud, A., Boonbumrung, S., 2018. Influences of different freezing and thawing methods on the physico-chemical, flavor, and sensory properties of durian puree (cv. Monthong). *J. Food Process. Preserv.* 42, e13669.
- Reader, H.C., 2006. Understanding Microwave Heating Systems: A Perspective on State-of-the-Art, in: *Advances in Microwave and Radio Frequency Processing*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 3–14.
- Rękas, A., Ścibisz, I., Siger, A., Wroniak, M., 2017. The effect of microwave pretreatment of seeds on the stability and degradation kinetics of phenolic compounds in rapeseed oil during long-term storage. *Food Chem.* 222, 43–52.
- Reverte-Ors, J.D., Pedreño-Molina, J.L., Fernández, P.S., Lozano-Guerrero, A.J., Periago, P.M., Díaz-Morcillo, A., 2017. A Novel Technique for Sterilization Using a Power Self-Regulated Single-Mode Microwave Cavity. *Sensors* 17, 1309.
- Rivera, X.C.S., Azapagic, A., 2016. Life cycle costs and environmental impacts of production and consumption of ready and home-made meals. *J. Clean. Prod.* 112, 214–228.
- Rossing, N.L., Lind, M., Jensen, N., Jørgensen, S.B., 2010. A functional HAZOP methodology. *Comput. Chem. Eng.* 34, 244–253.
- Roussy, G., Rochas, J.-F., Oberlin, C., 2003. Chauffage diélectrique - Principes et spécificités Ref TIP302WEB - Réseaux Électr. Appl. URL [/base-documentaire/energies-th4/electrothermie-industrielle-42270210/chauffage-dielectrique-d5940/](#) (accessed 7.23.18).

- Salim, N.S.M., Gariépy, Y., Raghavan, V., 2017. Hot Air Drying and Microwave-Assisted Hot Air Drying of Broccoli Stalk Slices (*Brassica oleracea* L. Var. *Italica*). *J. Food Process. Preserv.* 41, e12905.
- Sarah, M., Madinah, I., Salamah, S., 2018. Optimization of palm fruit sterilization by microwave irradiation using response surface methodology. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 309, 012074.
- Satpathy, S.K., Tabil, L.G., Meda, V., Naik, S.N., Prasad, R., 2014. Torrefaction of wheat and barley straw after microwave heating. *Fuel* 124, 269–278.
- Schubert, H., Regier, M., 2005. *The Microwave Processing of Foods, The Microwave Processing of Foods.* Elsevier Ltd.
- Siguemoto, É.S., Gut, J.A.W., 2016. Dielectric Properties of Cloudy Apple Juices Relevant to Microwave Pasteurization. *Food Bioprocess Technol.* 9, 1345–1357.
- Singh, R.D., Bhuyan, K., Banerjee, J., Muir, J., Arora, A., 2017. Hydrothermal and microwave assisted alkali pretreatment for fractionation of arecanut husk. *Ind. Crops Prod.* 102, 65–74.
- Song, C., Wang, Y., Wang, S., Cui, Z., 2016. Temperature and Moisture Dependent Dielectric Properties of Chinese Steamed Bread Using Mixture Equations Related to Microwave Heating. *Int. J. Food Prop.* 19, 2522–2535.
- Stashenko, E.E., Jaramillo, B.E., Martínez, J.R., 2004. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. *J. Chromatogr. A* 1025, 93–103.
- Su, Y., Zhang, M., Zhang, W., Liu, C., Adhikari, B., 2018. Ultrasonic microwave-assisted vacuum frying technique as a novel frying method for potato chips at low frying temperature. *Food Bioprod. Process.* 108, 95–104.
- Taher, B.J., Farid, M.M., 2001. Cyclic microwave thawing of frozen meat: experimental and theoretical investigation. *Chem. Eng. Process. Process Intensif.* 40, 379–389.
- Tang, Z., Mikhaylenko, G., Liu, F., Mah, J.-H., Pandit, R., Younce, F., Tang, J., 2008. Microwave sterilization of sliced beef in gravy in 7-oz trays. *J. Food Eng.* 89, 375–383.
- Turner, I.W., Puiggali, J.R., Jomaa, W., 1998. A Numerical Investigation of Combined Microwave and Convective Drying of a Hygroscopic Porous Material: A Study Based on

- Pine Wood. Chem. Eng. Res. Des., 5th UK National Heat Transfer Conference 76, 193–209.
- Veillet, S., Tomao, V., Ruiz, K., Chemat, F., 2010. Green procedure using limonene in the Dean–Stark apparatus for moisture determination in food products. *Anal. Chim. Acta* 674, 49–52.
- Veldsink, J.W., Muuse, B.G., Meijer, M.M., Cuperus, F.P., van de Sande, R.L., van Putte, K.P., 1999. Heat pretreatment of oilseeds: effect on oil quality. *Lipid/Fett* 101, 244–248.
- Vian, M.A., Fernandez, X., Visinoni, F., Chemat, F., 2008. Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *J. Chromatogr. A* 1190, 14–17.
- Vinatoru, M., Mason, T.J., Calinescu, I., 2017. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC Trends Anal. Chem.* 97, 159–178.
- Virost, M., Tomao, V., Colnagui, G., Visinoni, F., Chemat, F., 2007. New microwave-integrated Soxhlet extraction: an advantageous tool for the extraction of lipids from food products. *J. Chromatogr. A* 1174, 138–144.
- Virost, M., Tomao, V., Ginies, C., Visinoni, F., Chemat, F., 2008. Microwave-integrated extraction of total fats and oils. *J. Chromatogr. A* 1196, 57–64.
- Wang, Z., Wang, L., Li, T., Zhou, X., Ding, L., Yu, Y., Yu, A., Zhang, H., 2006. Rapid analysis of the essential oils from dried *Illicium verum* Hook. f. and *Zingiber officinale* Rosc. by improved solvent-free microwave extraction with three types of microwave-absorption medium. *Anal. Bioanal. Chem.* 386, 1863–1868.
- Wroniak, M., Rękas, A., Siger, A., Janowicz, M., 2016. Microwave pretreatment effects on the changes in seeds microstructure, chemical composition and oxidative stability of rapeseed oil. *LWT - Food Sci. Technol.* 68, 634–641.
- Yanik, D.K., 2017. Alternative to traditional olive pomace oil extraction systems: Microwave-assisted solvent extraction of oil from wet olive pomace. *LWT-Food Sci. Technol.* 77, 45–51.
- Zill-E-Huma, H., 2010a. Microwave Hydro-diffusion and gravity: a novel technique for antioxidants extraction (PhD Thesis). Université d'Avignon.

Chapitre II. Présentation et adaptation du pilote
combinant micro-ondes et centrifugation

II.1 Introduction

Ce chapitre présente le pilote disponible à l'IFTS qui permet l'application de micro-ondes dans uneessoreuse (Figure II.1). Les évolutions du dispositif seront décrites depuis sa configuration initiale jusqu'aux développements qui ont conduit à sa mise en service pour différentes applications.

Les résultats obtenus lors d'études précédentes relatifs à la déshydratation assistée thermiquement seront brièvement rappelés ainsi que les principaux résultats permettant d'expliquer les mécanismes mis en jeu au cours du procédé. Cette synthèse permettra de mettre en perspective l'intérêt de la combinaison essorage/micro-ondes, mais aussi de souligner la complexité des interactions qui existent entre les différents composants du système.

À partir des principaux aspects physiques relatifs aux interactions mécaniques/thermiques relevés dans la partie précédente, le cahier des charges auquel doit répondre un outil permettant d'extraire des composés d'intérêt, à partir de matrices végétales, par micro-ondes et centrifugation sera établi. Cette analyse conduira à définir les modifications à apporter au dispositif de déshydratation par essorage/micro-ondes dans l'objectif de son utilisation en extraction.



Figure II.1 : Dispositif expérimental en version déshydratation par essorage/micro-ondes : vue d'ensemble et représentation schématique (Apaolaza, 2014).

II.2 Différentes phases de développement du pilote essorage/micro-ondes

L'IFTS dispose d'uneessoreuse pilote de marque Robatel acquise en 1984 et qui a été utilisée lors de la thèse de P. Borel en 1986 (Borel, 1986) pour étudier et modéliser les phases de formation et de lavage des gâteaux par centrifugation.

Des travaux de recherche ont été repris lors de la dernière décennie dans le cadre de deux thèses qui ont visé à rajouter un système de chauffage par micro-ondes pour combiner un effet thermique à l'effet mécanique produit par la centrifugation, dans un objectif d'intensification des procédés industriels de déshydratation (Figure II.2).

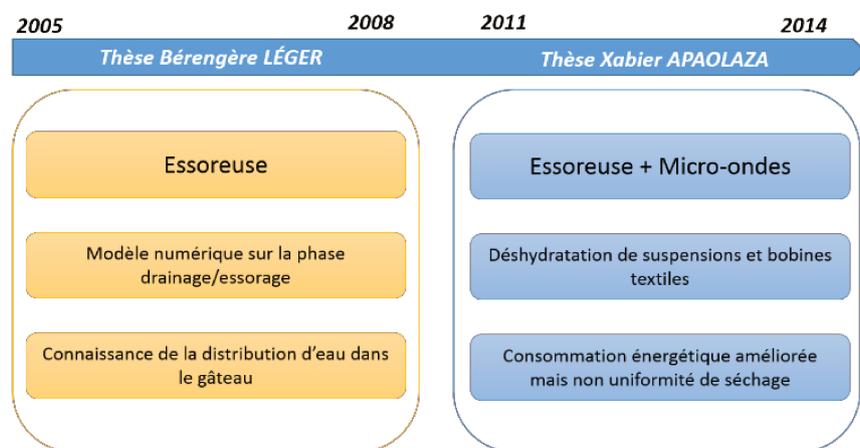


Figure II.2 : Différentes phases du développement du pilote essorage/micro-ondes au cours des travaux de deux thèses réalisées à l'IFTS.

Un premier dispositif expérimental, partiellement instrumenté, couplant essorage et séchage a été développé en 2008 dans le cadre de la thèse de B. Léger (Léger, 2008). L'objectif de ce projet était d'étudier et de modéliser la phase d'essorage pour décrire l'état de saturation du gâteau afin de définir les conditions d'un apport thermique le plus efficace du point de vue de la déshydratation. Le dispositif expérimental a été développé à partir de l'essoreuse Robatel (Figure II.3) et a abouti à la réalisation d'un premier pilote essorage/micro-ondes. Cependant, la possibilité d'effectuer un apport de chaleur était limitée aux phases de la séparation (essorage) pour lesquelles l'essoreuse est soumise au niveau de vibrations le plus faible.

De plus, l'instrumentation du système ne permettait pas un suivi complet des paramètres liés à la cinétique de déshydratation. Par ailleurs, un modèle, décrivant la phase d'essorage, afin

de connaître précisément l'évolution de la distribution d'eau dans le gâteau, a été validé. Des premiers tests de déshydratation utilisant la combinaison essorage/micro-ondes ont été alors effectués, mais l'étude du couplage entre les effets mécanique et thermique n'a pas pu être abordée.



(a) Vue globale



(b) Vue du carter

Figure II.3 : Essoreuse semi-industrielle Robatel : a) vue de la machine dans sa version initiale ; b) représentation en 3D du carter et du panier de la machine (Apaolaza, 2014).

Pour corriger ces lacunes techniques et démontrer l'intérêt du couplage entre effets mécanique et thermique d'un point de vue énergétique, l'amélioration et l'instrumentation du prototype ont été engagées, dans le cadre d'une seconde thèse (Apaolaza, 2014). Ces travaux ont permis, d'une part le développement et l'instrumentation complète du pilote d'essoreuse et d'autre part, d'acquies la maîtrise de la mise en œuvre d'un apport des micro-ondes dans une machine tournante constituant une cavité multimode. La métrologie associée (du capteur à l'acquisition des données) a été développée en prenant en compte les conditions d'utilisation correspondant à un environnement électromagnétique sévère, ce qui a imposé des mises en œuvre spécifiques (Apaolaza, 2014).

Cette étude était le fruit d'une collaboration entre l'IFTS, le CETIAT (Centre Technique des Industries Aéronautiques et Thermiques) et l'I2M (UMR 5295). Elle s'est concrétisée par le développement d'un pilote de filtration sous champ centrifuge couplé à un dispositif micro-ondes (Figure II.4), conçu pour le séchage de suspensions minérales et de produits textiles.

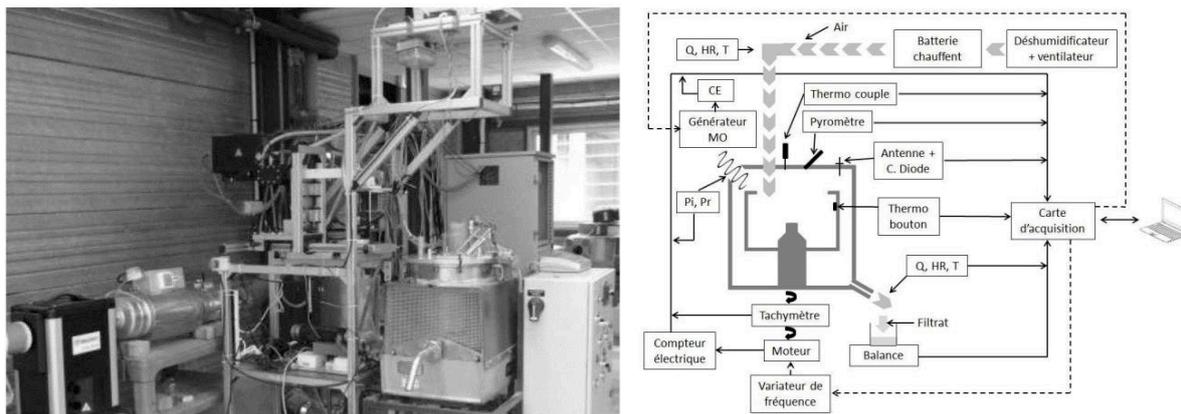


Figure II.4 : Dispositif expérimental développé lors de la thèse de X. Apaolaza (2014) ; photographie et schéma ; (Apaolaza, 2014).

La combinaison essorage/micro-ondes peut être envisagée de deux façons différentes :

- de façon séquentielle : la séparation mécanique étant réalisée avant l'apport thermique par micro-ondes. L'avantage est de limiter la manipulation de produits fragiles et éventuellement de diminuer l'encombrement, le coût du matériel, l'exposition du personnel à des vapeurs de solvant et de résidu et le volume d'effluents de nettoyage ;
- de façon parallèle : l'apport de chaleur intervient de façon simultanée à la séparation mécanique en cherchant à obtenir une synergie entre les effets mécaniques et thermiques. Ce couplage de procédé peut apporter des gains significatifs en terme énergétique sur la séparation liquide/solide.

Les résultats ont mis en évidence une synergie entre les phénomènes de séchage induits par un chauffage diélectrique et les effets centrifuges liés à la rotation du panier dans le cas des bobines textiles. La combinaison des effets donne des résultats concluants du point de vue énergétique et laisse entrevoir des perspectives intéressantes pour ce type de technique. Cependant, des contraintes techniques, liées notamment au matériau utilisé pour le panier qui est métallique et au fait que l'essoreuse n'a pas été conçue initialement pour intégrer un dispositif de chauffage micro-ondes, ont induit des limitations trop fortes pour aboutir à un procédé énergétiquement intéressant dans le cadre de la déshydratation de gâteaux de filtration ou avec des perspectives de développement trop limitées pour ce qui est des produits textiles.

II.3 Combinaison d'effets mécanique et thermique pour la déshydratation

Les travaux précédents de B. Léger et X. Apaolaza ont abouti à un pilote d'essorage/séchage par micro-ondes. Les processus physiques mis en jeu dans un tel dispositif et qui peuvent, selon la configuration opératoire choisie, induire une synergie entre les effets mécaniques et thermiques seront détaillés dans cette partie. Dans un premier temps, les aspects généraux de la déshydratation mécanique par essorage seront traités. La description de la distribution de l'eau (ou du solvant) dans le système ainsi que son état physique seront présentés. Ensuite, les spécificités liées au traitement micro-ondes dans une cavité complexe telle que le carter d'uneessoreuse seront abordés. Pour finir, l'intérêt de la combinaison pour le séchage et par extension pour l'extraction sera discuté.

II.3.1 Aspects généraux de l'essorage

II.3.1.1 Abaissement de la pression du liquide dans le gâteau

L'essorage permet de déshydrater des gâteaux formés par filtration centrifuge dans un panier muni d'une toile filtrante. Lors de l'essorage, la mise en rotation rapide du panier permet d'expulser le liquide interstitiel sous l'effet de la force centrifuge. Du point de vue des mécanismes physiques, la force centrifuge induit un écoulement diphasique dans l'espace poral. Le solvant (liquide mouillant) étant remplacé par l'air (gaz non mouillant), l'écoulement correspond à un drainage centrifuge. Au sein de l'espace poral, les phases mouillantes et non mouillantes sont séparées par des ménisques dont la courbure dépend de la mouillabilité du système, de la tension superficielle du liquide et de la géométrie des pores. Les effets capillaires qui en résultent tendent à abaisser la pression dans le liquide, alors que le gaz, du fait de sa grande mobilité par rapport au liquide, joue un rôle essentiellement passif de remplacement de la phase liquide en conservant une pression homogène et égale à la pression ambiante. En cours de l'essorage, il apparaît deux zones distinctes :

- une zone insaturée dans laquelle la saturation augmente depuis la valeur minimale à la surface du gâteau, et
- une zone saturée qui tend à se réduire au cours de la séparation et au sein de laquelle les effets capillaires n'agissent pas.

Sous l'action conjointe des effets capillaires et de la force centrifuge, la pression liquide dans le gâteau augmente selon l'épaisseur du gâteau, de sa valeur minimale à la surface du gâteau, à sa valeur maximale juste en amont du média filtrant. Deux points sont à noter à ce stade :

- selon les conditions opératoires la pression du liquide, ce dernier mis en tension du fait de la force centrifuge qui tend à l'expulser et des effets capillaires qui tendent à le retenir, s'abaisse et peut atteindre des valeurs négatives, et
- la distribution du liquide dans le gâteau est très hétérogène et la majeure partie se trouve « concentrée » dans la zone saturée qui jouxte le média filtrant.

La Figure II.5 donne un exemple de résultats obtenus par simulation numérique dans lesquels sont présentées les évolutions des champs de pression liquide et de saturation dans le gâteau au cours de l'essorage.

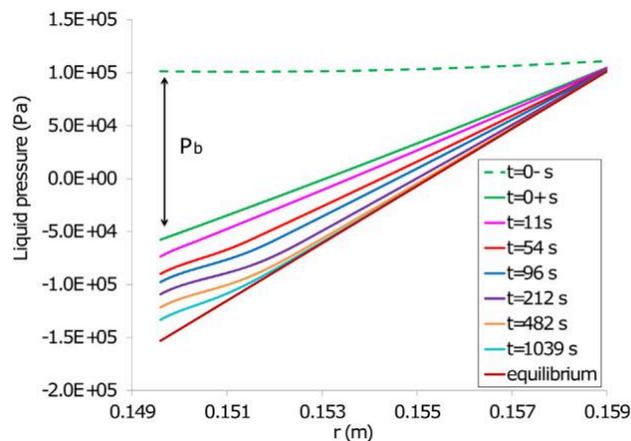


Figure II.5: Distribution de la pression liquide dans le gâteau pendant le drainage centrifuge (Apaolaza, 2014).

L'obtention de valeurs de pression liquide absolue négatives au sein d'un milieu poreux a été discutée par Hirasaki et al., (1988). Lorsque le liquide est mis en tension, comme c'est le cas en essorage, la pression liquide peut, dans des circonstances expérimentales précises, atteindre des valeurs très fortement négatives en se maintenant dans un état dit métastable (Caupin and Herbert, 2006), bien en deçà de la pression de vapeur saturante. L'ébullition ne prend pas naissance du fait de la difficulté à créer une cavité de vapeur de rayon infiniment petit. Cependant, la présence de germes de nucléation promeut le changement d'état et ne

permet pas à la pression liquide de descendre en dessous de la pression de vapeur saturante à la température considérée. Dans un milieu poreux tel qu'un gâteau de filtration, les germes de nucléation sont omniprésents, mais d'après Hirasaki et al., (1988), le confinement du liquide dans l'espace poral est susceptible de bloquer la formation de cavités de vapeur de grandes dimensions et de ce fait d'empêcher le phénomène de dégazage. Hirasaki et al., (1988) estime que des pressions négatives allant jusqu'à moins quatre bar sont possibles et donne des confirmations expérimentales. Si l'essorage est poursuivi suffisamment longtemps, le système atteint l'équilibre capillaro-centrifuge pour lequel la distribution du liquide est facile à calculer.

II.3.1.2 Aéraulique du pilote essorage/micro-ondes

Une étude de l'écoulement d'air provoqué par le mouvement du panier dans le pilote essorage/micro-ondes a été réalisée lors de la thèse de X. Apaolaza (Apaolaza ,2014). L'écoulement varie linéairement avec la vitesse de rotation avec des valeurs allant de 10 m³/h pour 1 000 tr/min (*i.e.* 179 G) jusqu'à 47 m³/h pour 4 000 tr/min (*i.e.* 2 862 G), lorsque les entrées d'air situées sur le couvercle de l'essoreuse ne sont pas obstruées. Les principales trajectoires sont indiquées sur la Figure II.6 : l'air entrant, aspiré par un orifice situé sur le couvercle de l'essoreuse, est entraîné en spirale vers le fond du panier. Au fur et à mesure qu'il descend, il est mis en rotation et s'éloigne de l'axe de la machine. Il remonte alors le long de la paroi du panier, duquel il ressort au niveau de la paroi supérieure. Il plonge alors vers le fond du carter en tournant avant d'être expulsé vers la tubulure de sortie du pilote.

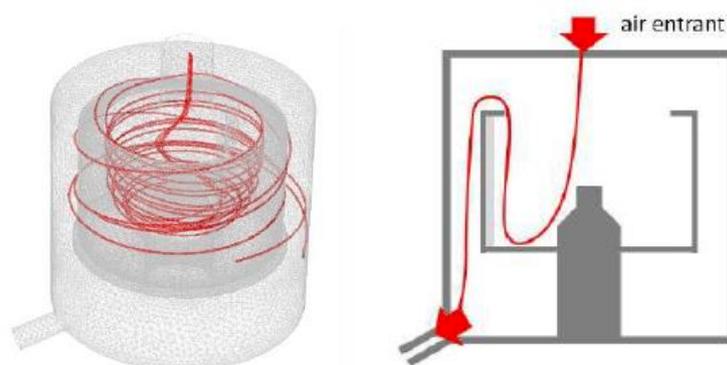


Figure II.6 : Modélisation de la trajectoire du flux d'air dans la centrifugeuse en 3D et 2D, (Apaolaza ,2014).

En revanche, lorsque les entrées d'air sont obstruées, aucune simulation numérique lors de travaux précédents n'a été réalisée mais il peut être imaginé que l'air et le panier métallique tournent conjointement : il y aurait une rotation en bloc de l'ensemble.

Une fois le liquide expulsé du gâteau et du panier, il est recueilli dans le carter de la machine, dans lequel il tourne de par la présence de l'écoulement d'air avant d'être expulsé vers la sortie du pilote.

II.3.1.3 Echanges convectifs à la surface du gâteau et à la paroi externe du panier du pilote

Le coefficient d'échange convectif au niveau du gâteau est fortement dépendant de la vitesse de rotation du panier et s'intensifie en fonction de l'élévation de cette dernière (Apaolaza, 2014). Le mécanisme qui explique ce phénomène est lié à l'aérodynamique du pilote avec l'effet d'aspiration d'air induit par la rotation du panier. Il existe donc une interaction entre l'effet de rotation du panier et le séchage au travers des échanges de chaleur et de masse. De plus, l'échange convectif au niveau de la surface externe du panier augmente du bas vers le haut et dépend également de la vitesse de rotation. La valeur du coefficient convectif est toujours plus grande à la surface du gâteau qu'au niveau de la surface externe du panier.

II.3.2 Chauffage par micro-ondes dans une cavité multimode

Dans le pilote essorage/micro-ondes, le chauffage par micro-ondes se produit dans une cavité multimode. En effet, la dimension du carter est environ cinq fois supérieure à la longueur d'onde électromagnétique, qui pour une fréquence de 2,45 GHz vaut approximativement 12 cm. La distribution du champ électrique est alors complexe puisqu'elle résulte des réflexions multiples sur les parois métalliques de la machine. Par simulation numérique, la distribution du champ électrique dans le gâteau a été calculée dans une géométrie similaire à celle de la machine. Les résultats sont présentés en Figure II.7 d'après Apaolaza, (2014). La répartition est très hétérogène dans le produit et son amplitude est très faible au voisinage des parois métalliques du panier. En effet, la condition à la limite imposée au champ électrique à la surface d'un conducteur parfait atténue fortement l'intensité du champ et par voie de conséquence, l'intensité du chauffage diélectrique.

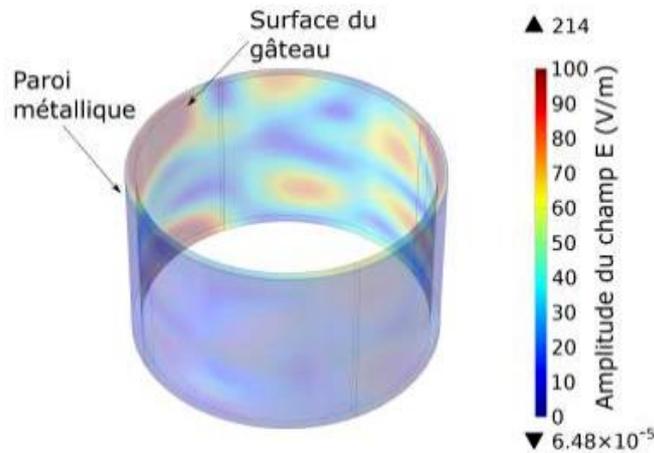


Figure II.7 : Répartition du champ électrique dans le gâteau par simulation numérique effectuée sous COMSOL Multiphysics® (Apaolaza, 2014).

Il est, alors, intéressant d'étudier la répartition de la température au niveau du gâteau. Un exemple de simulation d'échauffement du gâteau dans un panier en rotation est présenté en Figure II.8. Le champ de température est invariant par rotation autour de l'axe de la machine, et il dépend de la position verticale du fait de la distribution du champ dans la machine avec des zones chaudes au centre et des zones froides délimitées en bas et en haut du panier par la proximité des parois métalliques. Un des intérêts de la mise en rotation du système est alors montré : elle permet d'homogénéiser le chauffage du produit bien que la distribution du champ électrique soit fortement hétérogène.

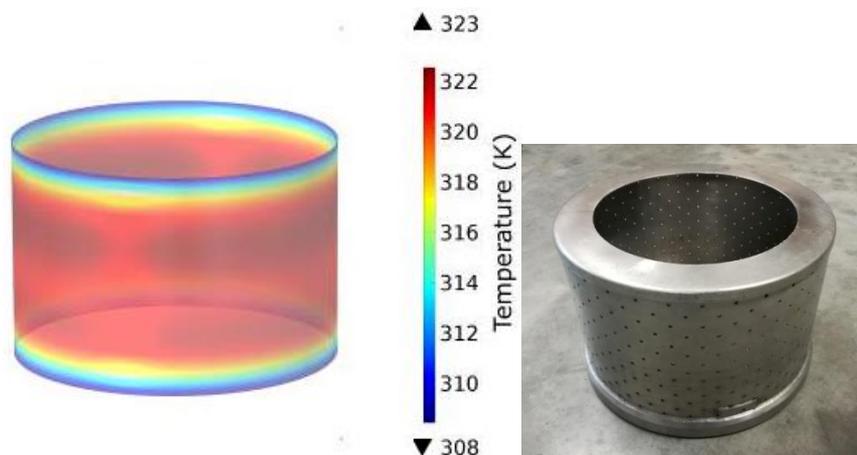


Figure II.8 : Exemple d'échauffement diélectrique dans un gâteau en rotation et photographie du panier d'essorage (Apaolaza, 2014).

Une autre remarque importante est relative au panier : l'atténuation du champ électrique pénalise fortement le chauffage micro-ondes au voisinage des parois, ce qui constitue une contrainte sévère pour le dispositif. Par ailleurs, comme le montre la photo de la Figure II.8, la surface d'échange entre la paroi externe du panier et l'air dans la machine est réduite à la surface des trous réalisés à travers la paroi. Pour un procédé de séchage, cela constitue aussi une limitation importante. Il est possible de réaliser un panier dans un matériau transparent aux micro-ondes. Cependant, les contraintes mécaniques imposées au dispositif à forte vitesse de rotation n'ont pas permis de définir un matériau aux propriétés diélectriques et mécaniques convenables.

II.3.3 Intérêt du couplage mécanique et thermique

La synergie entre les effets thermique (chauffage par micro-ondes) et mécanique (centrifugation) peut se caractériser par une réduction de la consommation énergétique. En effet, comme expliqué précédemment, le liquide présent dans le gâteau, sous l'effet des effets capillaires et centrifuges, peut être mis en tension. L'abaissement de la pression lié aux effets mécaniques devrait permettre une vaporisation à un coût énergétique réduit. Ainsi, un apport de chaleur modéré est susceptible d'induire une vaporisation de liquide. De plus, ce phénomène serait susceptible d'affecter l'équilibre du liquide dans le gâteau ce qui permettrait de récupérer une partie du liquide à faible consommation d'énergie.

Par ailleurs, la rotation du panier induit un écoulement d'air qui peut être favorable lors de la phase de séchage pour transférer la vapeur d'eau du produit à l'air induit et éviter l'augmentation de l'humidité relative dans l'enceinte de la machine. Elle permet également l'homogénéisation du champ de température au sein du produit. Néanmoins, il en résulte une baisse de température à la surface du produit qui peut être considérée comme un effet négatif car cela constitue un frein pour le séchage.

II.4 Cahier des charges du pilote pour l'extraction à partir de matrices végétales

Une partie importante de ce travail de thèse est d'évaluer les besoins nécessaires pour que le pilote essorage/micro-ondes puisse être adapté au domaine de l'extraction végétale. En effet,

le chauffage par micro-ondes et la centrifugation pourraient aussi s'appliquer à l'extraction solide-liquide qui consiste à récupérer un ou plusieurs composés solubles dans un liquide porteur à partir d'un matériau solide insoluble et dont la mise en œuvre fait appel à de nombreuses opérations unitaires. L'éco-extraction utilise déjà, depuis une trentaine d'années, le chauffage par micro-ondes comme technique d'extraction pour des raisons de gains de temps et de sélectivité du chauffage, seul ou en association avec d'autres principes mais sa combinaison avec un effet centrifuge élevé n'a jamais été étudiée.

L'objectif est d'établir le cahier des charges du pilote pour définir les adaptations à réaliser permettant l'extraction. Les points abordés seront ceux relatifs au générateur micro-ondes, à l'application en simultané du chauffage par micro-ondes et de la force centrifuge, à la collecte du liquide sortant du pilote, à la distribution du produit et à l'injection d'eau (à l'état de vapeur ou de liquide) pendant la manipulation.

II.4.1 Puissance micro-ondes et insertion de la matrice végétale dans le pilote

Dans le domaine de l'extraction du végétal, la puissance micro-ondes utilisée est habituellement de l'ordre de 1 W/g lorsque la matrice végétale est disposée dans un réacteur en verre inséré dans le four à micro-ondes (Vian et al., 2008). Le réacteur ne dispose que d'une seule ouverture qui est située à l'extérieur du four et qui permet la collecte de l'extrait à l'aide de la gravité après passage dans un condenseur. L'extrait n'est donc que très peu exposé au champ électromagnétique.

La limite du générateur micro-ondes placé sur le pilote essorage/micro-ondes est de 1 200 W ce qui implique que la masse de matrice végétale à insérer dans le pilote avoisinera, préférentiellement, les 1,2 kg. Ensuite dans le pilote, la matrice végétale sera disposée dans un panier métallique directement inséré dans l'essoreuse constituant la cavité micro-ondes. La matrice végétale, une fois chauffée, libèrera un mélange liquide-vapeur qui disposera d'un volume conséquent pour se recondenser (pour la partie vapeur). Les parois de la cavité en début d'extraction étant froides, la recondensation pourra se produire, en partie, directement dans l'essoreuse. L'extrait pourra encore être présent dans le four micro-ondes après sa séparation avec la matrice végétale, et pourra subir un second chauffage par micro-ondes ce qui peut impliquer une diminution de la qualité de l'extrait du fait de la surchauffe du liquide.

Un aspect important concerne la puissance micro-ondes qui retourne vers le générateur et qui est nommée puissance réfléchie. La puissance réfléchie dépend de la charge qui évolue tout au long du procédé. Le dispositif est doté d'un adaptateur d'impédance manuel qui permet d'atténuer l'onde renvoyée vers le générateur. Ceci nécessite de régler l'adaptateur à l'aide de trois stubs installés sur le guide d'onde. Au cours de l'extraction, le système s'appauvrit en eau, la charge n'est alors plus adaptée avec le générateur et la puissance réfléchie augmente. L'opérateur doit modifier le réglage de l'adaptateur d'impédance pour ramener la puissance réfléchie à un niveau le plus faible possible et protéger ainsi le générateur qui, bien que protégé par une charge à eau, pourrait être endommagé par un niveau de puissance réfléchie trop élevé. La limite haute de la puissance réfléchie est fixée à 20 % de la puissance micro-ondes incidente, si cette limite est atteinte, l'extraction sera arrêtée pour éviter tout risque.

II.4.2 Application simultanée des micro-ondes et de la centrifugation

Le pilote essorage/micro-ondes peut appliquer simultanément une puissance micro-ondes et une centrifugation. Pour pouvoir évaluer l'influence de l'effet de centrifuge sur l'extraction, il est nécessaire de pouvoir diminuer la vitesse jusqu'à des vitesses pour lesquelles l'effet G est négligeable. Cependant, pour des raisons de protection de certains organes de la machine, il a été recommandé de ne pas utiliser les micro-ondes sans que le panier ne tourne à une vitesse minimale. En effet, la rotation a pour rôle d'homogénéiser le champ électromagnétique et ainsi d'éviter les risques de points chauds dans le produit et au niveau des joints d'étanchéité présents pour protéger le moteur de l'essoreuse. Le pilote n'est pas adapté pour être soumis à un champ électromagnétique seul, il est donc important de veiller à protéger les joints et autres éléments le mieux possible en les blindant avec du scotch aluminium par exemple et en appliquant une vitesse de rotation minimale. De plus, une machine tournante ne doit normalement pas être utilisée à une fréquence inférieure à 10 Hz ce qui correspond à une vitesse de rotation pour le pilote de 1 000 tr/min (*i.e.* 179 G). Cette vitesse minimale est imposée pour éviter les échauffements excessifs qui apparaissent au niveau du joint d'axe et des roulements du moteur de la machine. Pour contrer ce problème, un ventilateur refroidissant le moteur pourrait être installé dans l'optique de travailler à des vitesses de rotation inférieures à 1 000 tr/min soit 179 G.

Enfin, le temps total d'extraction sera fixé en fonction des risques de combustion du produit dans la machine. Pour une densité de puissance micro-ondes importante, le temps d'apparition de zones brûlées sur la matrice végétale est déterminé et fixé comme temps limite permettant de s'assurer qu'elle restera intègre au cours du procédé.

La capacité de chauffage des micro-ondes étant nettement supérieure à celle d'un chauffage traditionnel, la durée de l'extraction sous micro-ondes/centrifuge devrait être considérablement réduite par rapport à une extraction classique. Tous ces paramètres seront fixés en fonction de chaque matrice végétale traitée à la suite de multiples expériences préliminaires.

II.4.3 Collecte du liquide sortant du pilote

Le procédé d'extraction est une séparation liquide-solide, où le liquide (extrait) contient les molécules d'intérêt qui pourront être ensuite valorisées dans différents domaines. Il est donc nécessaire de collecter la totalité de cet extrait. C'est une étape-clé qui doit s'effectuer dans les meilleures conditions possibles. La matrice végétale, étant soumise à un chauffage par micro-ondes, montera rapidement en température et donc son eau intracellulaire se retrouvera sous forme d'un mélange liquide-vapeur. Ce dernier devra être condensé en totalité à la sortie du pilote pour ne pas réduire le rendement d'extraction. De plus le pilote n'étant pas étanche au gaz, il faudra veiller à limiter toutes les fuites possibles de l'extrait (entrées d'air situées sur le couvercle de l'essoreuse à obstruer).

II.4.4 Distribution du produit dans le panier

Travailler avec une machine tournante impose une surveillance particulière au niveau du chargement du panier d'essorage. Effectivement, il doit être parfaitement équilibré pour éviter tout balourd solide qui pourrait endommager la machine.

Le produit inséré dans le panier métallique doit être homogène, et doit s'équilibrer après application de la vitesse de rotation. Son épaisseur doit, autant que possible, rester constante le long du panier et sur toute sa hauteur. Ainsi, les vibrations de l'essoreuse seront limitées et les vitesses de rotation appliquées pourront être maximales (4 000 tr/min, *i.e.* 2 862 G). Il

paraît, alors, plus difficile de travailler avec des matrices végétales denses (fruits entiers, tubercules, graine, etc) pour lesquelles l'équilibrage sera moins facile qu'avec des matrices végétales légères (fleurs, racines, écorces, etc). Pour pallier ces contraintes, des prétraitements pourront être pratiqués comme un broyage ou un découpage de la matrice végétale avant extraction, ou bien la disposition par compartiments dans une poche fixée à la paroi métallique du panier, pour ainsi, faciliter l'équilibrage du produit dans la machine au cours de l'extraction micro-ondes et centrifugation (MO/C).

II.4.5 Ajout d'eau pendant la manipulation

L'objectif pour ce nouveau procédé d'extraction est de ne pas utiliser de solvant lors de l'extraction. Cela implique que la matrice végétale contienne un taux d'humidité suffisant pour que son eau intracellulaire joue le rôle de solvant extracteur. Pour récupérer un extrait conséquent et éviter toute combustion pendant l'extraction, le taux d'humidité de la matrice végétale doit être supérieur à 70 %. Si cela n'est pas le cas, il existe plusieurs possibilités tout en essayant de ne pas utiliser de solvant organique : la réhydratation du produit avant l'extraction ou bien l'ajout d'eau au cours de l'extraction. Cet ajout peut se faire sous forme d'eau liquide ou de vapeur d'eau.

L'ajout de vapeur d'eau permet de travailler à une température d'extraction plus élevée et de modifier l'aéroulque du système ; cela pourrait faciliter l'extraction de molécules volatiles vers la sortie du pilote par exemple.

II.4.6 Manipulations à l'échelle semi-industrielle

Le pilote essorage/micro-ondes est à l'échelle semi-industrielle ce qui implique de faire des extractions avec des quantités importantes de matrices végétales (>500 g) pour la collecte d'un extrait liquide. En effet, de nombreuses pertes d'extrait peuvent avoir lieu dans le système car le pilote n'est pas étanche au gaz et il existe de nombreux endroits où le liquide peut rester piégé (fond du panier, fond du carter, condenseur, etc). De plus, la mise en place d'une extraction, son déroulement et le nettoyage du pilote prend un temps conséquent qui impose donc un rythme de manipulation, au mieux, à une seule extraction par jour.

II.5 Modifications et adaptations du pilote pour l'extraction

Le pilote essorage/micro-ondes existant, non changé depuis la thèse de X. Apaolaza (2014) et présent à l'IFTS a été modifié pour l'adapter au domaine de l'extraction du végétal.

Les principaux domaines de développement du pilote ont été réalisés pour :

- la récupération de l'extrait liquide en sortie de la machine,
- la limitation des fuites de vapeurs (le pilote n'étant pas étanche au gaz),
- le développement d'un système d'injection de vapeur d'eau, et

II.5.1 Ajout d'un condenseur

La première étape a été l'ajout d'un condenseur à la sortie du pilote pour collecter la totalité de l'extrait représentant l'eau intracellulaire de la plante avec les molécules d'intérêt (Figure II.9).

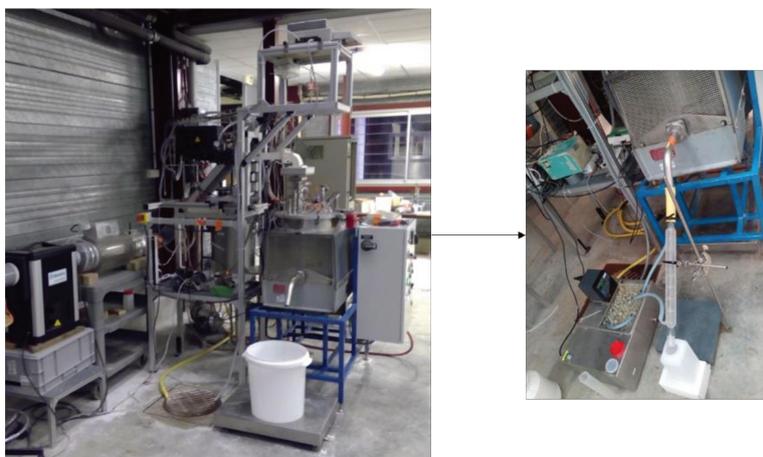


Figure II.9 : Ajout d'un condenseur au pilote pour collecter la totalité de l'extrait : photo de gauche, pilote existant ; photo de droite, le condenseur en verre installé à la sortie du pilote.

La surface d'échange du condenseur doit être suffisante pour récupérer la globalité de l'extrait à l'état liquide ; cela dépendra du débit de vapeur obtenu mais également de la température qui sera atteinte pendant l'extraction.

II.5.2 Limitation des fuites de vapeur

La deuxième étape a été d'obstruer toutes les entrées d'air situées sur le couvercle de la machine pour éviter que les vapeurs ne s'échappent du système et ainsi limiter les fuites. Les entrées d'air ont été obstruées à l'aide d'adhésif métallique et sont au nombre de quatre (Figure II.10). Cette étape permet d'éviter les pertes pendant l'extraction et d'obtenir une température d'extraction plus élevée.

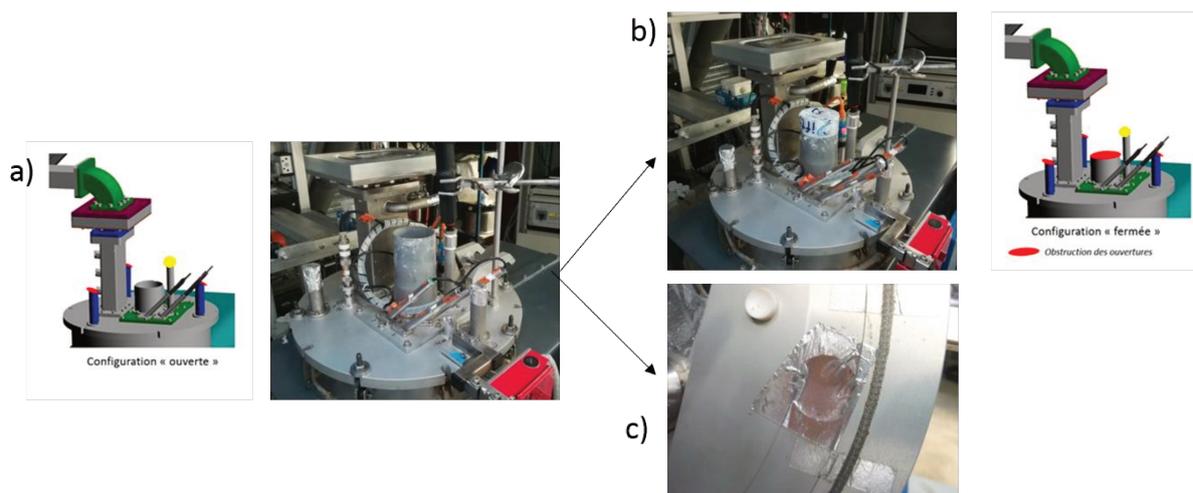


Figure II.10 : Limitations des fuites en obstruant les entrées d'air : a) configuration ouverte - photos et schémas, entrées d'air libres ; b) configuration fermée - photos et schéma quatre entrées d'air obstruées ; c) photo de l'adhésif métallique appliqué à l'intérieur de la machine pour bloquer l'entrée d'air.

II.5.3 Installation d'une hotte aspirante

La troisième étape a été de pallier la problématique liée aux odeurs dégagées par les matrices végétales pendant les extractions car malgré l'adhésif installé, les fuites restaient présentes. Les odeurs se répandaient dans l'atmosphère environnante et affectaient les conditions de travail des personnes présentes à l'IFTS, certaines étant intolérantes ou présentant des allergies particulières à certaines molécules. Pour résoudre ce problème, un extracteur de vapeurs disposé au-dessus de la machine a été installé (Figure II.11). Concernant l'extraction des molécules volatiles, les vapeurs étant donc très odorantes, un condenseur en acier a été mis en place avec une surface d'échange plus importante que celui en verre présenté en Figure II.9.

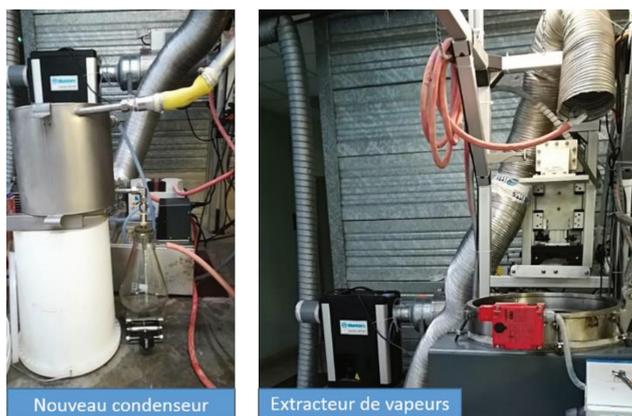


Figure II.11 : Limitations de la diffusion d'odeurs dans l'atmosphère environnante du pilote : extracteur de vapeurs et condenseur métallique.

II.5.4 Ajout d'eau en continu pendant l'extraction

Pour améliorer des rendements d'extraction, il peut être nécessaire d'injecter de la vapeur d'eau lorsque la matrice végétale n'en contient pas assez (taux d'humidité inférieur à 70%) ou lorsque cela peut faciliter l'entraînement des molécules volatiles contenues dans la plante. Un raccord reliant le pilote à un générateur de vapeur d'eau a donc été installé sous forme d'une buse d'alimentation fixée sur le couvercle de l'essoreuse (Figure II.12). Elle permet d'injecter l'eau au milieu du panier métallique au plus proche de la matrice végétale au cours de l'extraction favorisant une hydratation continue du produit. Cette injection peut aussi se faire avec de l'eau liquide sous pression.

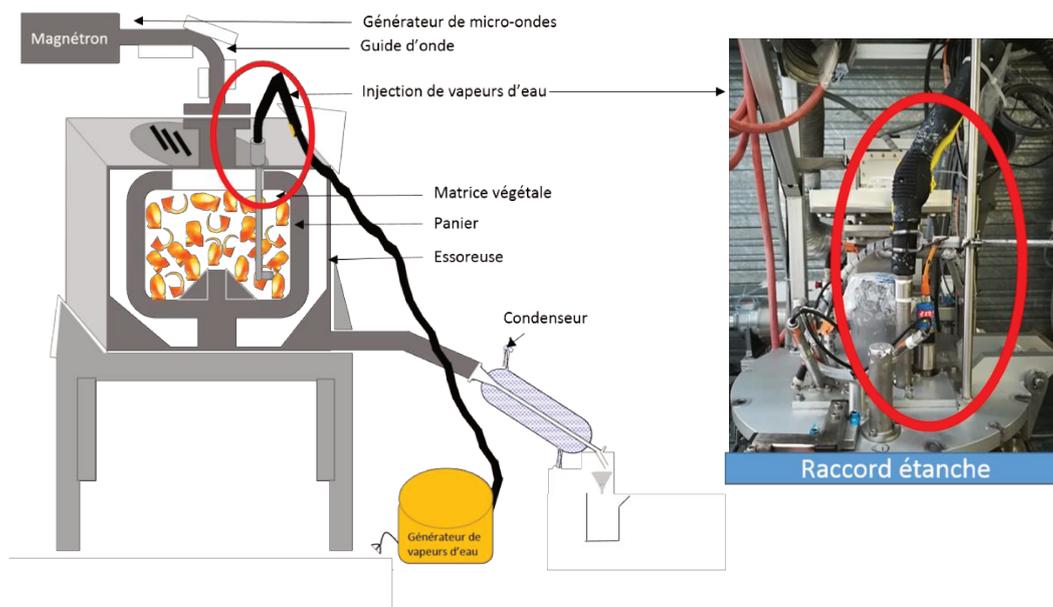


Figure II.12: Schéma explicatif et photographie de l'installation d'un raccord étanche situé sur le couvercle de l'essoreuse pour l'injection de vapeur d'eau pendant l'extraction.

II.5.5 Collecte de l'extract

La collecte du liquide au cours de l'extraction se fera suite à son passage dans le condenseur. Si une seule phase existe, elle sera récupérée dans un flacon normal. Si deux phases sont présentes, la collecte s'effectuera à l'aide d'un vase florentin qui permet de séparer deux liquides par différences de densité. Cette technique est couramment utilisée pour collecter les huiles essentielles qui ont une densité plus faible que celle de l'eau et remontent donc en surface de l'eau de distillation (Figure II.13). Au cours de l'extraction, une goutte d'huile essentielle prend la place d'une goutte d'eau car l'eau est rejetée dans un récipient placé à la sortie du tube coudé du vase florentin permettant le déplacement de l'eau. A la fin de l'extraction, les huiles essentielles sont récupérées à l'aide du robinet placé en dessous du réservoir du vase florentin après séparation avec l'eau.



Figure II.13 : Photographie du vase florentin en sortie du pilote pour collecter les huiles essentielles après passage dans un réfrigérant.

II.6 Conclusion

D'après les connaissances établies sur la configuration existante du pilote, la vitesse de rotation permettrait d'abaisser la pression du liquide présent dans le gâteau et donc une vaporisation de l'eau à moindre énergie. Elle agit sur le débit d'air circulant dans la machine et par conséquent, sur le coefficient d'échange convectif qui favorise le transfert de masse et améliore, alors, le séchage du produit (bobines textiles). De plus, elle permet d'homogénéiser le champ électromagnétique et donc la température de la surface du produit.

Néanmoins, un effet antagoniste de la vitesse de rotation est mis en évidence car elle implique un refroidissement général du système. Le flux de chaleur sera moins important lors de l'application de hautes vitesses de rotation du fait du débit d'air entrant par le couvercle de l'essoreuse. Des limitations existent également au niveau du panier d'essorage où le champ électrique est atténué au niveau des parois métalliques, la matrice végétale ne sera donc pas chauffée uniformément.

Concernant l'application au domaine de l'extraction, le refroidissement imputable à l'application d'une vitesse de rotation peut limiter la montée en température du liquide intracellulaire lors de l'application des micro-ondes. Il en résulte une limitation de l'augmentation de la pression interne de la cellule conduisant normalement à son explosion. Cette dernière se produit, généralement, à des températures supérieures à 100°C et elle permet d'obtenir un extrait en fin de manipulation. Par ailleurs, le refroidissement généré par

l'effet centrifuge peut, cependant, avoir un effet positif en protégeant les molécules thermosensibles présentes dans la matrice végétale.

L'avantage du pilote avec son effet mécanique serait, donc d'une part, d'homogénéiser le champ électromagnétique et ainsi d'éviter les points chauds au cours de l'extraction, d'autre part, d'intensifier la séparation/liquide solide et donc d'épuiser au mieux la matrice végétale en la compactant et en la déshydratant. En effet, le liquide est drainé efficacement à l'aide de l'effet centrifuge, ce qui n'est pas le cas lors d'extraction par micro-ondes classiques sans solvant où la matrice végétale n'est pas compressée et ne subit que la force gravitaire (Vian et al., 2008).

Sur la base du pilote existant, des adaptations et les modifications ont été réalisées pour le rendre effectif au domaine de l'extraction. Le pilote modifié est présenté en Figure II.14 ; cette configuration sera utilisée lors de la première étude sur une matrice végétale sélectionnée.

Plusieurs matrices végétales seront testées pour vérifier l'efficacité du pilote et mieux comprendre les mécanismes en jeu lors de la combinaison des effets thermique et mécanique. Les extractions pourront avoir lieu sur le pilote tout en limitant les balourds solides en début d'expérience et en régulant la puissance réfléchie au cours de la manipulation. Toutes les extractions réalisées avec ce pilote seront nommées : extraction micro-ondes/centrifuge (MO/C) : extractions dont l'effet centrifuge est notable (effet compressif) à la différence des extractions micro-ondes/rotation (MO/R) pour lesquelles l'effet centrifuge est négligeable (ou fortement réduit).

Les familles de molécules choisies, pour les premières études d'extraction, sont les composés phénoliques et les huiles essentielles. Suite aux premiers résultats obtenus, des optimisations et des améliorations sur le pilote pourront être envisagées pour augmenter les rendements d'extractions.

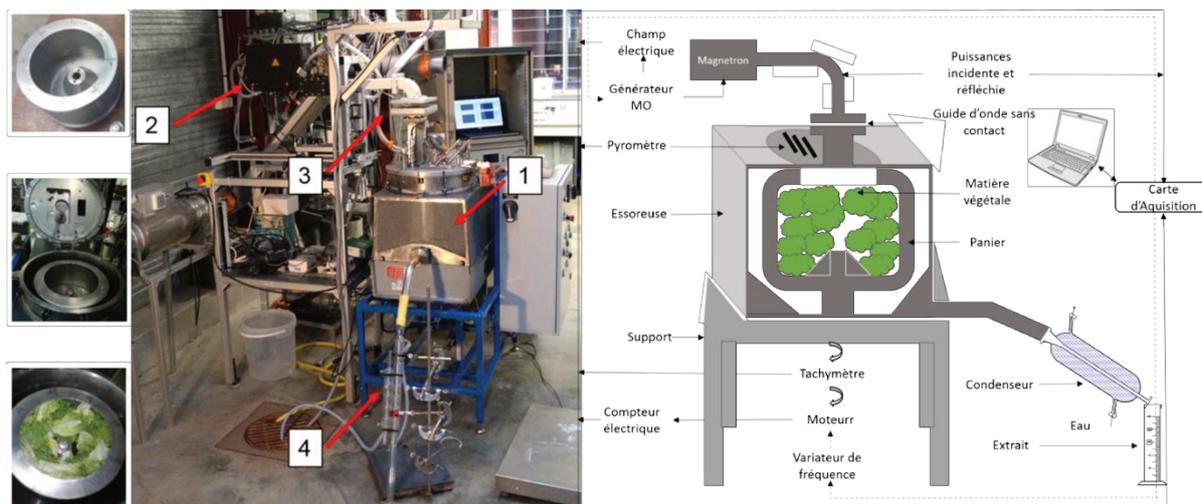


Figure II.14 : Pilote instrumenté micro-onde/centrifugation – Photos et Schéma de fonctionnement pour les extractions de molécules non volatiles : 1: Essoreuse ; 2 : générateur micro-ondes ; 3 : guide d'onde sans contact ; 4 : condenseur

II.7 Références

- Apaolaza, X., 2014. Déshydratation assistée thermiquement couplant essorage et micro-ondes. Université de Bordeaux 1.
- Borel, P., 1986. Etude expérimentale et modélisation de la filtration centrifuge: application au dimensionnement des essoreuses. Toulouse, INPT.
- Caupin, F., Herbert, E., 2006. Cavitation in water: a review. *Comptes Rendus Phys.* 7, 1000–1017.
- Hirasaki, G.J., O'Meara Jr, D.J., Rohan, J.A., 1988. Centrifuge Measurements of Capillary Pressure: Part 2-Cavitation, in: SPE Annual Technical Conference and Exhibition. Society of Petroleum Engineers.
- Léger, B., 2008. Étude de l'essorage en vue d'assister thermiquement le procédé. Université de Bordeaux 1.
- Vian, M.A., Fernandez, X., Visinoni, F., Chemat, F., 2008. Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *J. Chromatogr. A* 1190, 14–17.

Chapitre III. Matrices végétales étudiées et molécules
d'intérêt

III.1 Introduction

Dans cette thèse, l'objectif premier est de combiner des effets thermique et mécanique pour intensifier l'extraction du végétal sans utiliser de solvant organique, seulement l'eau intracellulaire de la plante ou de l'eau. La sélection de matrices végétales pour ces extractions est donc une étape importante. Elle doit essayer de répondre à certains critères comme un taux d'humidité élevé (de préférence supérieur à 70 %) et être peu dense pour favoriser l'homogénéité du produit. Il est intéressant également de tenir compte de la facilité d'approvisionnement et de la possible valorisation de déchets en coproduits. Les choix se sont tournés vers la salade qui contient des composés phénoliques et vers les écorces d'oranges possédant des huiles essentielles.

III.2 Matrices végétales étudiées

III.2.1 La salade

La majorité des salades feuilles consommées en France sont des laitues au sens botanique du terme (espèce *Lactuca Sativa L.*), de la famille des Astéracées (Pink et al., 1991). C'est une plante herbacée annuelle principalement cultivée en champ sur tous les continents (Ryder, 1999; Thicoïpé, 1997). Ce légume feuille constitue une source de nutriments, ainsi que de composés phytochimiques (Mou, 2009; Santos et al., 2012).

La salade (Figure III.1) est largement consommée dans le monde entier, coupée fraîche ou peu transformée. Elle est l'une des cultures vivrières les plus utilisées en légumes dits de "quatrième gamme" (nettoyés, éventuellement hachés, mélangés, prêts à être assaisonnés et consommés frais) (Baslam et al., 2011).



Figure III.1 : La salade (batavia).

La partie consommable de la salade contient environ 95 % d'eau mais aussi des fibres alimentaires (1,5 %), des sucres (0,9 %), des minéraux, des vitamines, des acides organiques, des nitrates etc. comme décrit dans la Tableau III.1. La composition varie d'une variété à l'autre selon les conditions de culture et le type de salade. Pour 100 g de salade, la valeur nutritive maximale est de 36 kJ (8,6 kcal) et la valeur calorifique totale est de 44 kJ (10 kcal) (Thicoipé, 1997).

Tableau III.1 : Constituants de la salade.

Composition	Pourcentage (%)
Eau	95
Fibres alimentaires	1,5
Sucres	0,9
Vitamines	<0,5
Composés phénoliques	<0,5
Caroténoïdes	<0,5
Minéraux	<0,5
Acides organiques	<0,5
Terpénoïdes	<0,5
Nitrates	<0,5
...	<0,5

La France est le 3^{ème} producteur de salades en Europe avec environ 308 000 tonnes de salades produites par an (moyenne Agreste 2012-2014) essentiellement en Provence-Alpes Côte-d'Azur (28 %), en Rhône-Alpes (12 %) et dans le Languedoc-Roussillon (12 %). La transformation industrielle, les pertes en station de conditionnement et d'expédition, les surplus de production peuvent entraîner de grosses pertes alimentaires ; elles sont estimées entre 15 et 20 % (Jeannequin et al., 2015) pour la salade en général. Le volume de coproduits issus de la salade et générés au cours des procédés industriels tels que la 4^{ème} gamme est estimé à 40 % environ. Les coproduits de salade ont donc été identifiés comme étant une source potentielle de micronutriments.

III.2.2 Les écorces d'oranges

L'orange (*Citrus Sinensis*) est le fruit comestible de l'oranger, arbre de la famille des Rutacées (Praloran, 1971). Les oranges sont le quatrième fruit le plus cultivé au monde principalement pour des applications agroalimentaires et industrielles avec notamment la production de jus d'orange.

La production de jus d'orange génère entre 8 et 20 millions de tonnes de déchets par an dans le monde (Rezzadori et al., 2012). Ces déchets constitués en moyenne de 60 à 65 % d'écorces et 30 à 35 % de chair et de graines (Satari and Karimi, 2018) sont généralement dédiés à l'alimentation animale ou bien éliminés par compostage ou incinération. Certains coproduits d'orange sont aussi utilisés pour l'extraction de pectines (Rezzadori et al., 2012), et d'huiles essentielles.

Les écorces d'oranges (Figure III.2) sont riches en huiles essentielles utilisées pour les industries du parfum, cosmétiques et pharmaceutiques. Elles contiennent également des composés non volatils comme les composés phénoliques. Pour extraire ces molécules d'intérêt, les méthodes conventionnelles (extraction solide-liquide, hydrodistillation) présentent plusieurs désavantages tels que l'utilisation des solvants coûteux et toxiques, les longues durées d'extraction (plus de 2 heures pour l'hydrodistillation) et la consommation élevée en énergie.



Figure III.2 : Ecorce d'orange (*Citrus Sinensis*).

De nouvelles technologies visant à intensifier l'extraction, tout en réduisant les impacts environnementaux et les besoins en énergie, ont été explorées (Gavahian et al., 2019) : extraction assistée par micro-ondes, ultrasons (Hosseini et al., 2019), cycles de pression, champ électromagnétique et fluides sous et supercritiques (Putnik et al., 2017; Satari and

Karimi, 2018). Les huiles essentielles extraites de l'écorce d'orange par diffusion de vapeur par micro-ondes ont des profils aromatiques et des teneurs en composés similaires à celles contenues par les procédés conventionnels (Farhat et al., 2011) ce qui en font un matériel de choix pour le développement d'une nouvelle technique d'éco-extraction.

III.3 Molécules d'intérêt présentes dans les matrices végétales sélectionnées pour cette étude

III.3.1 Les composés phénoliques

Les polyphénols ou composés phénoliques (CP), sont des molécules spécifiques du règne végétal. Ils constituent une classe de molécules caractérisée par la présence d'un ou plusieurs noyaux benzéniques comportant des fonctions hydroxyle (Hennebelle et al., 2004). Ils peuvent se présenter sous forme de molécules simples comme l'hydroquinone ou l'acide gallique jusqu'à des polymères à haut poids moléculaire comme les tanins.

III.3.1.1 Les différentes classes de composés phénoliques

Plus de 9 000 molécules ont été isolées et identifiées (Mompon et al., 1998). Elles sont réparties en plusieurs classes comme les acides phénoliques, les coumarines, les lignines, les flavonoïdes, les tanins, etc, selon la complexité de leur squelette de base et le degré de modification de ce squelette (Tableau III.2). Ces molécules sont généralement conjuguées à des sucres ou des acides organiques.

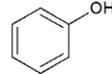
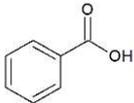
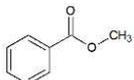
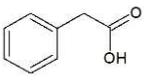
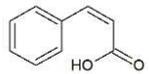
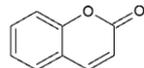
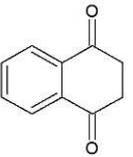
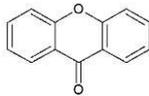
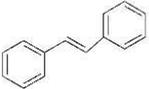
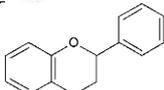
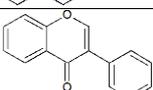
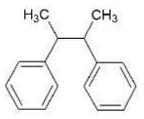
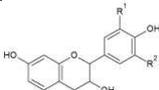
Les dérivées hydroxycinnamiques sont une importante catégorie dont la structure de base est l'acide cinnamique. L'acide caféique est le principal composé de cette classe, présent dans de nombreux fruits et légumes ; il représente au moins 75 % de la teneur totale en acides cinnamiques (Manach et al., 2004). Il est rarement présent à l'état libre mais généralement sous forme d'esters de l'acide quinique (acide chlorogénique) ou de glucoside.

Les flavonoïdes représentent le groupe le plus important des CP et sont largement distribués dans les aliments comme le raisin et les pommes, ainsi que dans des boissons dérivés (thé, vin). La structure de l'hétérocycle central et son degré d'oxydation permettent de les classer

en de nombreuses sous-classes dont les flavanols, les anthocyanes, les flavones, les flavonols (quercétine, kaempférol) et les flavanones (hespéridine, naringénine).

Les flavonoïdes sont présents le plus souvent sous la forme soluble d'hétérosides avec le glucose et le rutinose. Ils participent aux propriétés organoleptiques des fruits et légumes et sont notamment des pigments responsables de leur coloration.

Tableau III.2 : Les principales classes et structures des squelettes des composés phénoliques (Crozier et al., 2008; Macheix et al., 2005).

Nombre de Carbones	Squelette	Classification	Structure de base	Exemple	Plantes alimentaires (exemple)
6	C ₆	Phénols simples		catéchols	Acacia à cachou
7	C ₆ -C ₁	Acides phénols		Acide gallique	Epices, Fraises
8	C ₆ -C ₂	Acétophénonnes		Gallacétophénone	Igname
8	C ₆ -C ₂	Acides phénylacétiques		Acide p-hydroxyphényl-acétique	Bananier
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques		Acide caféique	Pomme, P.de Terre
9	C ₆ -C ₃	Coumarines		Esculitine	Citrus
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones		Juglone	Noix
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones		Mangiférine	Mangue
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes		Resveratrol	Vigne
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes		Naringénine	Fruits et légumes
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Isoflavonoïdes		Daidzéïne	Soja, Pois
n	(C ₆ -C ₃)n	Lignines		/	Fruits à noyaux
n	(C ₁₅)n	Tanins		/	Raisin rouge, Kaki

III.3.1.2 Les composés phénoliques de la salade

Les CP présents dans différentes variétés de salades ont largement été étudiés (Altunkaya et al., 2009; Assefa et al., 2019; Coria-Cayupán et al., 2009; Mai and Glomb, 2013; Martínez-

Sánchez et al., 2011) . Ce sont principalement les acides hydroxycinnamiques et les flavonols (Carazzone et al., 2013). Les dérivés de l'acide caféique sont principalement présents chez les variétés vertes, tandis que les flavonols sont détectés en plus grande quantité chez les variétés rouges ou vertes/rouges (Llorach et al., 2008).

Les analyses par HPLC-DAD-MS/MS ESI montrent la présence d'un composé majoritaire, l'acide di-*O*-caféoyltartrique appelé également acide chicorique. D'autres acides hydroxycinnamiques ont été identifiés : l'acide *O*-caféoyltartrique, l'acide 3-*O*-caféoylquinique et l'acide 3,5-di-*O*-caféoylquinique (ou acide isochlorogénique) (Figure III.3).

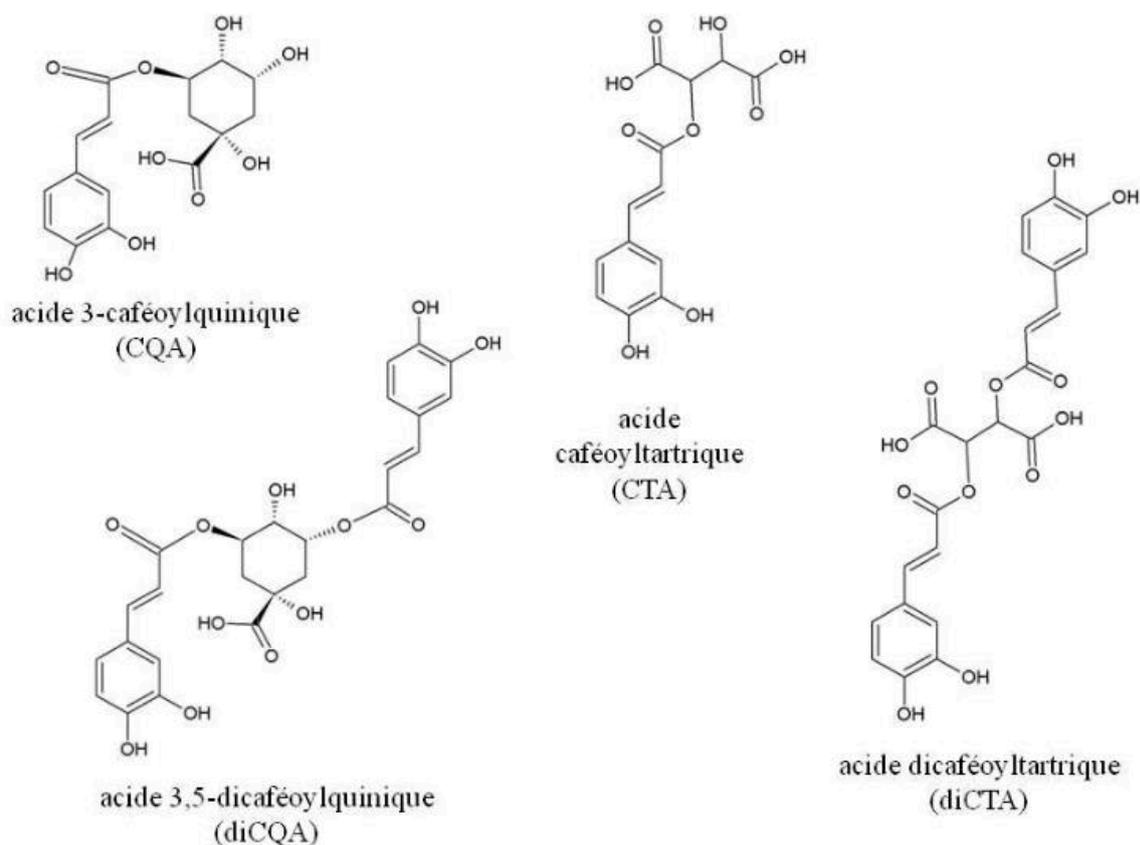


Figure III.3 : Molécules d'acides caféoylquinique et dicaféoylquinique ; d'acides caféoyltartrique et dicaféoyltartrique.

Le principal composé flavonol est un glycoside de quercétine, la quercétine-3-*O*-(6''-*O*-malonyl)-glucoside ; des dérivés de la lutéoline et du kaempférol ont également été détectés en petites quantités (Abu-Reidah et al., 2013; Assefa et al., 2019).

Les anthocyanes ne sont présentes que dans les variétés à feuilles rouges. La cyanidine est alors l'anthocyanidine majeure ; elle est présente sous forme glycosylée avec la cyanidine - 3 -O- glucoside (Figure III.4), cyanidine - 3 -O-(3'' -O- malonylglucoside ; la cyanidine - 3 -O-(6'' -O-acétylglucoside) et n'est identifiée que dans les cultivars rouges (Viacava et al., 2017).

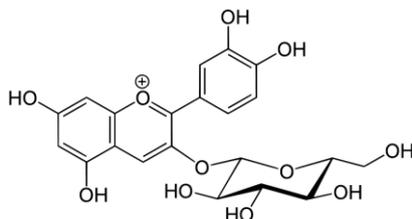


Figure III.4 : Molécule cyanidine – 3 - O - glucoside.

Les teneurs en CP varient selon les variétés, le stade de maturité, les conditions de cultures et de conservation. Une étude sur 22 variétés (Assefa et al., 2019) donne des teneurs entre 18,3 et 54,6 mg/100 g de matière sèche pour les dérivés hydroxycinnamiques et 9,5 à 25,9 mg/100 g de matière sèche pour les flavonoïdes.

III.3.1.3 Les composés phénoliques des écorces d'oranges

Les zestes d'agrumes représentent une source importante de CP et en particulier les flavonoïdes avec les glycosides de flavanone (l'hespéridine, la naringine, la narirutine et l'ériocitrine), les aglycones de flavone polyméthoxylé (tels que la sinensétine, la nobilétine, la tangéretine), les glycosides de flavonol (tels que la rutine) ainsi que les flavones C-glycosylées (Sawalha et al., 2009), et les anthocyanines pour les oranges sanguines. Des acides phénoliques, principalement de la famille des acides cinnamiques (acides férulique, coumarique et sinapique) ont également été identifiés (Manthey and Grohmann, 2001).

Les écorces d'oranges sont riches en CP avec des teneurs qui varient entre 150 à 361 mg d'équivalent acide gallique par 100 g de matière sèche selon les méthodes d'extraction.

III.3.1.4 Localisation dans la plante

Les CP sont présents dans de nombreux organes de la plante : les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Au niveau subcellulaire, les CP s'accumulent d'une part dans la paroi cellulaire (lignines, certains flavonoïdes, acide férulique) et d'autre part dans les vacuoles pour les composés solubles. Ces localisations impliquent un transport des CP ainsi que l'existence de mécanismes d'accumulation, dans la mesure où les enzymes assurant la biosynthèse sont essentiellement cytoplasmiques (Fleuriet et al., 1996).

III.3.1.5 Propriétés et utilisation des composés phénoliques

L'industrie agroalimentaire s'intéresse aux CP en raison notamment de leurs propriétés antioxydantes. En effet, de nombreuses études épidémiologiques ont démontré les effets nutritionnels bénéfiques d'un régime riche en fruits et légumes (Junien, 2002). Consommés en quantités importantes, ils seraient associés à une réduction des risques de maladies cardiovasculaires et de certains cancers. Ces bienfaits sont attribués à une teneur élevée en antioxydants (Czernichow et al., 2003).

Un antioxydant est défini comme « toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à un substrat oxydable, retarde significativement ou inhibe l'oxydation de ce substrat » (Gutteridge and Halliwell, 1994). Les antioxydants agissent de façon directe ou indirecte en tant que moyen de défense contre les espèces oxygénées réactives et selon différents mécanismes.

Parmi les antioxydants présents dans les fruits et légumes, les CP interviendraient dans le mécanisme d'interruption de la chaîne de propagation des réactions radicalaires en cédant un hydrogène aux radicaux peroxydes (Hodek et al., 2002). Ils sont également capables de chélater les métaux de transitions $Fe^{2+/3+}$ et $Cu^{+/2+}$ qui accélèrent les réactions d'oxydation lipidique, ou inhibent des enzymes impliquées dans la production des espèces oxygénées réactives (van Acker et al., 1998). Ce rôle de bouclier permettrait, donc, d'éviter l'oxydation des cellules et ainsi de lutter contre le vieillissement cellulaire (Fleuriet et al., 1996).

Les antioxydants sont largement utilisés dans le domaine agroalimentaire pour retarder ou ralentir l'oxydation des aliments. Controversés, les antioxydants de synthèse sont amenés à être remplacés par les antioxydants naturels. Les antioxydants naturels les plus répandus sont

la vitamine C, le β -carotène (provitamine A), la vitamine E, le lycopène et les polyphénols. Ces derniers incluent les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins et les acides phénoliques.

Des extraits de romarin sont désormais inscrits dans la liste des antioxydants alimentaires (directives européennes 2010/67/EU et 2010/69/EU Journal officiel de la Commission européenne) et peuvent donc être officiellement utilisés pour améliorer la conservation des produits alimentaires.

Cette nouvelle réglementation permet d'augmenter la valeur ajoutée des extraits issus des fruits et légumes et leur coproduits riches en ces molécules.

III.3.1.6 Réactions d'oxydation des composés phénoliques

La déstructuration cellulaire lors du traitement des matrices végétales, avant ou pendant l'extraction, peut entraîner une oxydation (brunissement) du végétal et de ses extraits. L'origine de ce brunissement peut être enzymatique ou non enzymatique.

Dans le cas du brunissement enzymatique, les enzymes (polyphénols oxydases (PPO) et/ou peroxydases) présentes dans le cytoplasme sont mises en contact avec leurs substrats potentiels, les CP localisés dans les vacuoles (Figure III.5).

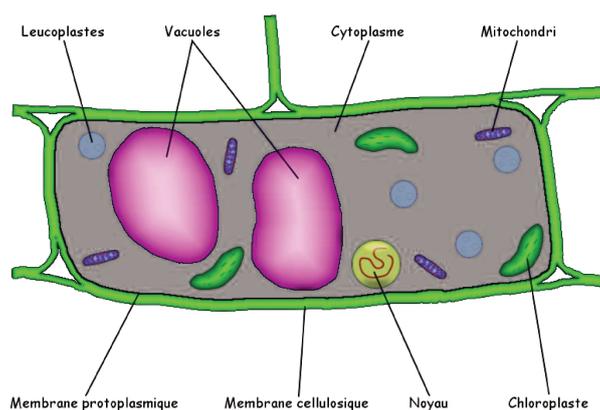


Figure III.5 : La cellule végétale - Vacuoles contenant les composés phénoliques (rose) ; Cytoplasme contenant les enzymes (bleu).

Ces derniers sont alors oxydés en quinones en présence de dioxygène et/ou de peroxyde d'hydrogène (Pizzocaro et al., 1993). Les o-quinones se polymérisent rapidement pour former

des pigments bruns (mélanine). Le brunissement non enzymatique peut être associé à de l'auto-oxydation et aux réactions de Maillard (Issa, 2009) ; il apparaît, bien souvent, lors des traitements thermiques.

Si le brunissement peut être parfois recherché et bénéfique, dans de nombreux produits alimentaires, qu'il soit catalysé ou non par des enzymes, il est à l'origine de la diminution de qualités organoleptique et nutritionnelle par l'apparition de saveurs désagréables (rancidité), la perte de couleur, l'apparition de couleurs brunes et une diminution des teneurs en acide ascorbique.

L'intensité du brunissement dépend de la quantité de PPO active dans les tissus, de la teneur en CP, du pH, de la température et de la disponibilité en oxygène. Pour éviter le brunissement lors de l'extraction des CP, il est donc possible d'agir sur trois paramètres principaux (Bouquelet, 2016) :

- le pH : travailler à pH très acides (2,5 à 2,7) pour inactiver les PPO,
- la température : les traitements thermiques sont les plus utilisés pour stabiliser les aliments en raison de leur efficacité pour inactiver des enzymes à chaud (70-80°C) ou à froid (-18°C), et
- l'utilisation d'agents réducteurs : ajout de SO₂ ou de Sulfites, vitamine C. Les produits d'oxydation des diphénols, les quinones, réagissent entre eux et forment des dimères phénoliques. Ces dimères s'oxydent à nouveau et forment des polymères plus ou moins bruns. L'acide ascorbique (Hsu et al., 1988), les composés thiolés (Henze, 1956), les sulfites (Sayavedra-Soto et Montgomery, 1986) et les acides aminés (Kahn, 1985) sont capables d'inhiber la formation de ces dimères en réduisant les quinones en phénols ou en formant des produits d'addition incolores par exemple.

III.3.2 Les huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont définies selon la commission de la pharmacopée européenne (2008) comme étant un « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans

chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

Seules les plantes dites « aromatiques » (Lamiacées, Lauracées, Pinacées, Rutacées, Apiacées) produisent des quantités suffisantes d'huiles essentielles.

III.3.2.1 Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique d'une huile essentielle (HE) est souvent très complexe (Laurent, 2017) : d'une manière générale, les constituants principaux représentent des proportions comprises entre 10 et 50 % alors que les autres constituants ne sont présents qu'à l'état de traces (de l'ordre du micro ou du nanogramme). D'une façon générale, les constituants appartiennent principalement à deux types chimiques.

D'un côté, on retrouve les composés terpéniques (hydrocarbures) : monoterpènes (C_{10}), sesquiterpènes (C_{15}), diterpènes (C_{20}), triterpènes (C_{30}). Ils sont formés de n multiples de l'isoprène C_5H_8 et peuvent être classés selon leur nombre d'unités isoprène (Roulier and Roulier, 1990). Les terpènes peuvent être aromatisés ou fonctionnalisés avec différents groupements tels que des alcools (géraniol, linalol, menthol), des cétones (menthone, thuyone) ou encore des aldéhydes (néral, géraniol).

Il est, également, retrouvé :

- des esters terpéniques résultant d'une réaction entre une fonction alcool et une fonction acide avec perte d'eau comme le salicylate de méthyle et l'acétate de linalyle, et
- des phénols terpéniques possédant une fonction hydroxyle sur un noyau benzénique comme le thymol ou l'eugénol.

Les hydrocarbures sesquiterpéniques sont des terpènes en C_{15} composés de trois unités isoprène (curcumène, zingibérène). Ces molécules sont rarement retrouvées dans les HE ou en faible quantité (Baudoux et al., 2006).

Dun autre côté, des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont retrouvés. Ils sont beaucoup moins fréquents que les composés terpéniques. Très fréquemment, il s'agit d'allyle et de propénylphénols, des aldéhydes aromatiques (benzaldéhyde), caractéristiques

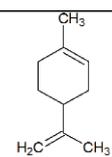
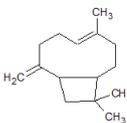
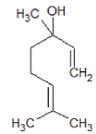
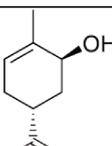
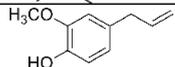
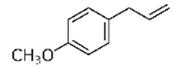
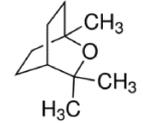
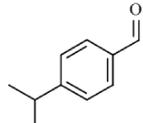
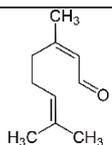
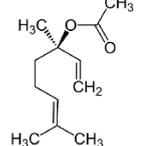
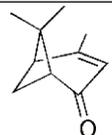
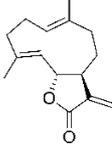
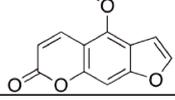
de certaines HE, telle que celle du girofle (eugéol). On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en C₆-C₁, plus rares, tel que le safrole (Staub and Bayer, 2013).

Compte-tenu de leur mode d'extraction, les HE peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation : carbure, acide (C₃ à C₁₀), alcools, aldéhydes (octanal, décanal, etc), esters, lactones, produits azotés ou soufrés.

La composition d'une HE varie considérablement en fonction de la variété, de la saison, de l'origine géographique, de la maturité du fruit, de la méthode d'extraction, ainsi que de l'interaction de divers facteurs (Fisher and Phillips, 2008; Sharma et al., 2017).

Les HE combinent des molécules très variées (Tableau III.3), en moyenne une centaine de molécules différentes.

Tableau III.3: Composition chimique d'une huile essentielle avec la classification de ses différents constituants (Baudoux et al., 2006; Staub and Bayer, 2013).

Squelette	Classification	Propriétés	Exemple	Plantes (exemple)
Terpènes	Monoterpène	Décongestionnant, Dermocaustifs	limonène 	Agrumes
Terpènes	Sesquiterpène	Anti-inflammatoire, calmant	Caryophyllène 	Clou de girofle
Alcool	Monoterpénol	Anti-infectieux	Linalol 	Lavande
Alcool	Sesquiterpenols (acyclique et cyclique)	Décongestionnant	Carvéol 	Carvi
Phénol	Aromatique	Anti infectieuses Dermocaustique	Eugénol 	Thym
Phénol	Méthyl esters	Anti infectieuses	Estragole 	Estragon
	Oxydes terpéniques	Décongestionnant	1,8 cinéol 	Eucalyptus radié
Aldéhyde	Aromatique	Anti infectieuses, dermocaustiques	Cuminal 	Cumin
Aldéhyde	Terpénique	Anti-inflammatoires	Néral 	Verveine citronnée
Ester	Terpénique	Calmant et sédatifs	Acétate de Linalyl 	Lavandin
Cétone	Terpénique	Mucolytiques, neurotoxiques	Verbénone 	Romarin
Lactone		Anti-infectieuses	Costunolide 	Laurier Noble
Coumarine		Sédatives nerveuses, photosensibilisantes	Bergaptène 	Bergamote

III.3.2.2 Composition d'une huile essentielle d'écorce d'orange

L'analyse qualitative et quantitative de l'HE d'écorce d'orange permet l'identification de 70 composés (Hosni et al., 2010). Les principaux groupes chimiques sont les hydrocarbures monoterpènes (94,4 à 97,3%) et les alcools terpéniques (1,4 à 1,0%) (Njoroge et al., 2009). Parmi les hydrocarbures monoterpéniques, le limonène est le principal composé. Il existe sous forme de deux isomères chiraux R- et S-limonène (Figure III.6) : dans l'orange, seul l'isomère R (D-Limonène) est présent. La concentration en limonène varie selon les variétés : 30 à 40 % dans la bergamote, 40 à 75 % dans le citron et 68 à 98 % dans l'orange douce (Moufida and Marzouk, 2003).

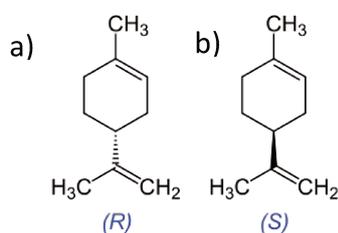


Figure III.6 : Enantiomères du Limonène : a) R-Limonène b) S-Limonène.

D'autres monoterpènes sont identifiés en fonction des variétés et des modes d'extraction comme le β -myrcène, le α -pinène, le sabinène (Farhat et al., 2011), puis des monoterpènes oxygénés tels que les aldéhydes monoterpéniques (néral, géraniol) et les alcools monoterpéniques (nérol, géraniol, linalol) (Gancel et al., 2002) ainsi que des sesquiterpènes oxygénés.

Bien que le limonène soit prédominant dans la composition volatile de l'HE, sa contribution à l'arôme final du mélange est limitée (Selli and Kelebek, 2011) par son instabilité et la possibilité de formation de composés odorants (Gonçalves et al., 2017).

L'odeur caractéristique de l'HE est due à la présence de composés volatils mineurs, tels que le linalol, l'octanal, le citronellal et d'autres composés oxygénés, comme l'aldéhyde décylque.

III.3.2.3 Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les HE peuvent être extraites de toutes les parties de la plante telles que les feuilles (eucalyptus, citronnelle, laurier noble, etc), les fleurs (rose, camomille, lavande, etc), les zestes (citron, orange, bergamote, etc), le bois (bois de rose, santal, etc), l'écorce (cannelier, etc), la

racine (vétiver, etc), les fruits (anis, badiane, etc), les rhizomes (curcuma, gingembre, etc), les graines (muscade, etc) (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, 2008). Les HE se forment dans le cytoplasme de certaines cellules végétales spécialisées. Elles peuvent être stockées et emmagasinées dans diverses structures de la plante.

La biosynthèse et l'accumulation des molécules aromatiques sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées (cellules à essence, poches sécrétrices, canaux sécréteurs, poils sécréteurs ou trichomes, cellules épidermiques, cellules sécrétrices internes, etc), souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante (Bruneton, 2009).

Dans les écorces d'oranges, les HE, enfermées dans des glandes sécrétrices, se trouvent dans l'épiderme aussi nommé flavédo qui représente 8 à 10 % du fruit en masse. Il est constitué de couches épidermiques et hypodermiques entourant un parenchyme massif avec de nombreuses cavités glandulaires (Farhat et al., 2011).

III.3.2.4 Propriétés et utilisation des huiles essentielles

Les HE possèdent des propriétés physiques communes ; elles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites « fixes » (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, 2008). Elles sont huileuses, mais non grasses et s'évaporent facilement ; elles sont solubles dans l'alcool et dans tout type de corps gras (liposolubles). Elles sont incolores ou jaune pâle sauf pour les HE de cannelle, girofle, camomille matricaire, vétiver et bouleau où la couleur est relativement foncée. Elles sont, enfin, sensibles à l'oxydation et change de couleur, à la lumière et à la chaleur. Elles ont un indice de réfraction élevé qui est utilisé comme critère de pureté et la plupart dévient la lumière polarisée. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau sauf quelques exceptions à cette règle comme les huiles du saffran, du clou de girofle, du vétiver et de la cannelle (Bruneton, 2009). Chaque HE est unique et se caractérise par ses propriétés odorantes.

Les HE sont entraînaibles à la vapeur d'eau, mais très peu solubles dans l'eau. Cependant, une fraction de leurs composants se solubilise dans l'eau ce qui permet d'obtenir « les eaux florales » ou « eaux distillées végétales ». Les HE sont séparées de ces eaux florales par décantation (Durville, 1930, 1893).

L'utilisation des HE se retrouve dans plusieurs industries comme en aromathérapie, en pharmaceutique, en agroalimentaire, en cosmétique, en parfumerie et dans les produits sanitaires (Businesscoot, 2019). Leur usage est thérapeutique dans un médicament en fonction de ses différentes propriétés et caractéristiques. En agroalimentaire, les HE sont utilisées comme complément et/ou arôme alimentaire, exhausteur de goût dans divers produits (cafés, thés, tabacs, vins, yaourts, plats cuisinés notamment). Les industries de la parfumerie, des arômes et de la cosmétique sont les principales consommatrices d'HE. Ce sont en effet les produits de base utilisés pour ajouter des odeurs dans les produits cosmétiques tels que des parfums, des savons, des shampoings, des gels-douches, des crèmes cosmétiques et/ou hydratantes, etc. Le secteur des produits ménagers (détergents et lessives par exemple) en consomme également beaucoup pour masquer les odeurs, souvent peu agréables, des produits purs.

L'HE d'écorce d'orange, *Citrus sinensis*, est connue pour être antiseptique, faciliter la digestion, ouvrir l'appétit, retrouver un équilibre psychique en cas d'anxiété et d'agitation et donc à s'endormir (Festy, 2018). En cuisine, elle est utilisée pour son arôme naturel.

III.3.2.5 Réactions d'oxydation des huiles essentielles

La relative instabilité des molécules constitutives des HE implique des précautions particulières pour leur conservation. Il convient de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air. En effet, les possibilités de dégradation sont nombreuses, facilement mises en évidence par la mesure d'indices chimiques (indice de peroxyde, indice d'acide, etc), par la détermination de grandeurs physiques (indice de réfraction, pouvoir rotatoire, miscibilité à l'éthanol, densité, etc) et/ou par l'analyse chromatographique (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, 2008). Les conséquences de dégradation sont multiples par exemple : la photo-isomérisation, la photo-cyclisation, la coupure oxydative, la peroxydation et la décomposition en cétones et alcools, la thermo-isomérisation, l'hydrolyse et la trans-estérification.

III.4 Conclusion

Cette étude bibliographique sur les deux matrices végétales sélectionnée permet de mettre en évidence les propriétés des deux types de molécules qui seront recherchées dans les extraits obtenus avec la nouvelle technique d'extraction :

- les composés phénoliques (non volatils) issus de la salade et des écorces d'oranges présentant des propriétés anti-oxydantes,
- les huiles essentielles (volatiles) issues de l'écorce d'orange présentant des propriétés notamment relaxantes et stimulante pour la digestion.

Les mécanismes d'extraction pour ces molécules non-volatiles et volatiles avec le pilote micro-ondes et centrifugation seront différents de par l'aéroulque dans le système lié à l'action de la vitesse de rotation et de par leur réponse face au chauffage par micro-ondes.

III.5 Références

- Abu-Reidah, I.M., Contreras, M.M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., 2013. Reversed-phase ultra-high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry as a powerful tool for metabolic profiling of vegetables: *Lactuca sativa* as an example of its application. *J. Chromatogr. A* 1313, 212–227.
- Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, 2008. Recommandations relatives aux critères de qualité de huiles essentielles 18.
- Altunkaya, A., Becker, E.M., Gökmen, V., Skibsted, L.H., 2009. Antioxidant activity of lettuce extract (*Lactuca sativa*) and synergism with added phenolic antioxidants. *Food Chem.* 115, 163–168.
- Assefa, A.D., Choi, S., Lee, J.-E., Sung, J.-S., Hur, O.-S., Ro, N.-Y., Lee, H.-S., Jang, S.-W., Rhee, J.-H., 2019. Identification and quantification of selected metabolites in differently pigmented leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivars harvested at mature and bolting stages. *BMC Chem.* 13, 56.
- Baslam, M., Garmendia, I., Goicoechea, N., 2011. Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) Improved Growth and Nutritional Quality of Greenhouse-Grown Lettuce. *J. Agric. Food Chem.* 59, 5504–5515.
- Baudoux, D., Blanchard, J.-M., Malotau, A.-F., 2006. Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française: Soins palliatifs. Édition Inspir.
- Bouquelet, S., 2016. Réaction de brunissement.
- Bruneton, J., 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier.
- Businesscoot, 2019. Le Marché des Huiles Essentielles.
- Carazzone, C., Mascherpa, D., Gazzani, G., Papetti, A., 2013. Identification of phenolic constituents in red chicory salads (*Cichorium intybus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 138, 1062–1071.
- Coria-Cayupán, Y.S., Sánchez de Pinto, M.I., Nazareno, M.A., 2009. Variations in bioactive substance contents and crop yields of lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivated in soils with different fertilization treatments. *J. Agric. Food Chem.* 57, 10122–10129.

- Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H., 2008. Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. John Wiley & Sons.
- Czernichow, S., Blacher, J., Hercberg, S., 2003. Prévention des maladies cardiovasculaires par les vitamines antioxydantes. *Médecine Thérapeutique Cardiol.* 1, 172–180.
- Durville, J.P., 1930. Fabrication des essences et des parfums: Chimie des parfums.
- Durville, J.-P., 1893. Fabrication des essences et des parfums: plantes à parfum.-Extraction des essences et des parfums par distillation par expression et par les dissolvants. J. Fritsch.
- Farhat, A., Fabiano-Tixier, A.-S., El Maataoui, M., Maingonnat, J.-F., Romdhane, M., Chemat, F., 2011. Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: kinetic data, extract's global yield and mechanism. *Food Chem.* 125, 255–261.
- Fisher, K., Phillips, C., 2008. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Trends Food Sci. Technol.* 19, 156–164.
- Fleuriet, A., Uhel, C., Dédaldéchamp, F., 1996. Les composés phénoliques et la qualité des produits d'origine végétale consommés par l'homme. *Acta Bot. Gallica* 143, 493–500.
- Festy, D., 2018. Ma bible des huiles essentielles. Éditions Leduc.s.
- Gancel, A.-L., Ollé, D., Ollitrault, P., Luro, F., Brillouet, J.-M., 2002. Leaf and peel volatile compounds of an interspecific citrus somatic hybrid [*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swing.+ *Citrus paradisi* Macfayden]. *Flavour Fragr. J.* 17, 416–424.
- Gavahian, M., Chu, Y.-H., Mousavi Khaneghah, A., 2019. Recent advances in orange oil extraction: an opportunity for the valorisation of orange peel waste a review. *Int. J. Food Sci. Technol.* 54, 925–932.
- Gonçalves, D., Costa, P., Rodrigues, C.E., Rodrigues, A.E., 2017. Fractionation of acid lime essential oil using ethanol/water mixtures: Effect of the process on the aroma profile. *J. Chem. Thermodyn.* 108, 118–126.
- Gutteridge, J., Halliwell, B., 1994. Antioxidants in nutrition, health, and disease. Oxford University Press.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F., 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie* 2, 3–6.
- Hodek, P., Trefil, P., Stiborová, M., 2002. Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact.* 139, 1–21.

- Hosni, K., Zahed, N., Chrif, R., Abid, I., Medfei, W., Kallel, M., Brahim, N.B., Sebei, H., 2010. Composition of peel essential oils from four selected Tunisian Citrus species: Evidence for the genotypic influence. *Food Chem.* 123, 1098–1104.
- Hosseini, S.S., Khodaiyan, F., Kazemi, M., Najari, Z., 2019. Optimization and characterization of pectin extracted from sour orange peel by ultrasound assisted method. *Int. J. Biol. Macromol.* 125, 621–629.
- Issa, N., 2009. Étude de l'oxydation de différents composés phénoliques par la laccase de *Myceliophthora thermophila* : application à la fonctionnalisation du chitosane (thesis). Vandoeuvre-les-Nancy, INPL.
- Jeannequin, B., Plénet, D., Carlin, F., Chauvin, J.-E., Dosba, F., 2015. Pertes alimentaires dans les filières fruits, légumes et pomme de terre. *Innov. Agron.* 48, 59–77.
- Junien, C., 2002. Obesity and type 2 diabetes: The epigenetic inheritance hypothesis. *Cah. Nutr. Diet.* 37, 261–272.
- Laurent, J., 2017. Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Université Paul Sabatier Toulouse III.
- Llorach, R., Martínez-Sánchez, A., Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I., Ferreres, F., 2008. Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. *Food Chem.* 108, 1028–1038.
- Macheix, J.-J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- Mai, F., Glomb, M.A., 2013. Isolation of phenolic compounds from iceberg lettuce and impact on enzymatic browning. *J. Agric. Food Chem.* 61, 2868–2874.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 727–747.
- Manthey, J.A., Grohmann, K., 2001. Phenols in citrus peel byproducts. Concentrations of hydroxycinnamates and polymethoxylated flavones in citrus peel molasses. *J. Agric. Food Chem.* 49, 3268–3273.
- Martínez-Sánchez, A., Tudela, J.A., Luna, C., Allende, A., Gil, M.I., 2011. Low oxygen levels and light exposure affect quality of fresh-cut Romaine lettuce. *Postharvest Biol. Technol.* 59, 34–42.

- Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P., Surbled, M., 1998. Extraction des polyphénols: du laboratoire à la production industrielle. Colloq.-INRA 31–44.
- Mou, B., 2009. Nutrient content of lettuce and its improvement. *Curr. Nutr. Food Sci.* 5, 242–248.
- Moufida, S., Marzouk, B., 2003. Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange. *Phytochemistry* 62, 1283–1289.
- Njoroge, S.M., Phi, N.T.L., Sawamura, M., 2009. Chemical composition of peel essential oils of sweet oranges (*Citrus sinensis*) from Uganda and Rwanda. *J. Essent. Oil Bear. Plants* 12, 26–33.
- Pink, D.A.C., Walkey, D.G.A., McClement, S.J., 1991. Genetics of resistance to beet western yellows virus in lettuce. *Plant Pathol.* 40, 542–545.
- Pizzocaro, F., Torreggiani, D., Gilardi, G., 1993. Inhibition of apple polyphenoloxidase (PPO) by ascorbic acid, citric acid and sodium chloride. *J. Food Process. Preserv.* 17, 21–30.
- Praloran, J.-C., 1971. *Les agrumes*. s.n., Paris.
- Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Režek Jambrak, A., Barba, F., Cravotto, G., Binello, A., Lorenzo, J., Shpigelman, A., 2017. Innovative “green” and novel strategies for the extraction of bioactive added value compounds from citrus wastes—a review. *Molecules* 22, 680.
- Rezzadori, K., Benedetti, S., Amante, E.R., 2012. Proposals for the residues recovery: orange waste as raw material for new products. *Food Bioprod. Process.* 90, 606–614.
- Roulier, G., Roulier, A., 1990. *Les huiles essentielles pour votre santé: traité pratique d'aromathérapie: propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes*. Dangles.
- Ryder, E.J., 1999. *Lettuce, endive and chicory*. Cab International.
- Santos, J., Mendiola, J.A., Oliveira, M.B.P.P., Ibáñez, E., Herrero, M., 2012. Sequential determination of fat- and water-soluble vitamins in green leafy vegetables during storage. *J. Chromatogr. A* 1261, 179–188.
- Satari, B., Karimi, K., 2018. Citrus processing wastes: environmental impacts, recent advances, and future perspectives in total valorization. *Resour. Conserv. Recycl.* 129, 153–167.
- Sawalha, S.M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., 2009. Quantification of main phenolic compounds in sweet and bitter orange peel using CE–MS/MS. *Food Chem.* 116, 567–574.

- Selli, S., Kelebek, H., 2011. Aromatic profile and odour-activity value of blood orange juices obtained from Moro and Sanguinello (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Ind. Crops Prod.* 33, 727–733.
- Sharma, H., Mendiratta, S.K., Agrawal, R.K., Gurunathan, K., Kumar, S., Singh, T.P., 2017. Use of various essential oils as bio preservatives and their effect on the quality of vacuum packaged fresh chicken sausages under frozen conditions. *LWT-Food Sci. Technol.* 81, 118–127.
- Staub, H., Bayer, L., 2013. *Traité approfondi de phyto-aromathérapie: avec présentation de 750 huiles essentielles connues.* Grancher.
- Thicoïpé, J.P., 1997. *Lettuces.* Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes (CTIFL).
- van Acker, S.A., van Balen, G.P., van den Berg, D.-J., Bast, A., van der Vijgh, W.J., 1998. Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. *Biochem. Pharmacol.* 56, 935–943.
- Viacava, G.E., Roura, S.I., Berrueta, L.A., Iriondo, C., Gallo, B., Alonso-Salces, R.M., 2017. Characterization of phenolic compounds in green and red oak-leaf lettuce cultivars by UHPLC-DAD-ESI-QToF/MS using MSE scan mode. *J. Mass Spectrom.* 52, 873–902.

Chapitre IV. Matériels et méthodes

IV.1 Introduction

Ce chapitre décrit les produits chimiques et les matières végétales utilisés ainsi que les procédés d'extractions avec leurs protocoles opératoires avec notamment le pilote combinant micro-ondes et centrifugation. La dernière partie de ce chapitre est consacrée à la description des méthodes de caractérisation physico-chimiques notamment par chromatographies liquide et gazeuse.

IV.2 Solvants et réactifs

Les différents solvants et réactifs utilisés pour les expérimentations sont référencés ci-après.

IV.2.1 Solvants pour l'extraction

Les solvants présentés dans le Tableau IV.1 sont utilisés lors des protocoles opératoires relatifs aux extractions par solvant.

Tableau IV.1 : Solvants utilisés pour les extractions.

Nom du solvant	n° CAS	Fournisseur
Ethanol	64-17-5	Fisher Scientific
N,N-Diméthylformamide	68-12-2	Sigma Aldrich
Diméthylsulfoxyde	67-68-5	Sigma Aldrich
Méthanol	67-56-1	Carlo Erba

IV.2.2 Produits et standards utilisés pour les analyses

IV.2.2.1 Solvants et réactifs

Les références des produits chimiques sont présentées dans le Tableau IV.2. Ces produits sont utilisés lors des méthodes pour la caractérisation physico-chimique des extraits.

Tableau IV.2 : Produits utilisés pour les analyses.

Nom du produit	n° CAS	Fournisseur
Acide formique	64-18-6	Sigma-Aldrich
Méthanol	67-56-1	Fisher Scientific
Acétonitrile	75-05-8	Fisher Scientific
Polyvinyl polypyrrolidone	9003-39-8	Fluka
Carbonate de sodium anhydre	497-19-8	ACS reagent
Réactif de Folin Ciocalteu	mélange	Sigma-Aldrich
Chlorure de sodium	7647-14-5	VWR International
Acide ascorbique	50-81-7	Sigma-Aldrich
Acide citrique	77-92-9	Sigma-Aldrich
Diméthylsulfoxyde	67-68-5	Sigma-Aldrich
Hexane	110-54-3	Fisher Scientific
Métabisulfite de sodium	7681-57-4	VWR International
Acide chlorhydrique	7647-01-0	ACS Reagent
Glutaraldéhyde	111-30-8	Electron Microscopy Sciences
Tétroxyde d'osmium	20816-12-0	Electron Microscopy Sciences
Hexaméthylidisilazane	999-97-3	Electron Microscopy Sciences
Cacodylate de sodium	124-65-2	Electron Microscopy Sciences

IV.2.2.2 Standards

Les standards présentés dans le Tableau IV.3 sont utilisés lors de la quantification des molécules d'intérêt des extraits.

Tableau IV.3 : Standards utilisés pour les analyses.

Nom du standard	n° CAS	Fournisseur
Acide caféoylquinique	327-97-9	Sigma-Aldrich
Tangéritine	481-53-8	Sigma-Aldrich
Hespéridine	520-26-3	Extrasynthèse
Acide sinapique	530-59-6	Extrasynthèse
Acide férulique	537-98-4	Extrasynthèse
Rutine	153-18-4	Sigma-Aldrich
Narirutine	14259-46-2	Sigma-Aldrich
n-Alcanes linéaires (C7-C30)		Merck

L'eau pure utilisée (H₂O MilliQ) a été obtenue à l'aide d'un système Millipore® QPak 2 (Millipore Corporation, Bedford, USA).

IV.3 Matrices végétales utilisées

IV.3.1 La salade

La salade fraîche, variété batavia (*Lactuca sativa* L.), utilisée pour cette étude a été achetée chez un maraîcher local et utilisée le jour même pour maintenir sa fraîcheur et sa teneur maximale en eau. L'humidité initiale est de 94 %.

IV.3.2 Les écorces d'oranges

Les écorces d'oranges, variété orange douce (*Citrus sinensis* L.) dont la provenance est d'Espagne, utilisées pour cette étude, ont été achetées sous forme de zestes surgelés en lamelles auprès de l'Agence Gadan Heugas (Villerouge, France). Les écorces d'oranges ont été reçues sous la forme de différents lots. Chaque lot a été décongelé 24 heures avant utilisation ou extraction à température ambiante. Sur chaque lot, des extractions de référence ont été

réalisées pour évaluer la quantité de molécules d'intérêt présentes. Le taux d'humidité des écorces d'oranges après décongélation est de 75%.

IV.4 Extractions de référence

L'extraction de référence pour les composés phénoliques est une extraction par solvant tandis que pour les huiles essentielles, une hydrodistillation a été réalisée sur les écorces d'oranges décongelées. Chaque type d'extraction est réalisé en triplicat afin de vérifier leur répétabilité.

IV.4.1 Extraction de référence des composés phénoliques

Pour les extractions de référence, des aliquotes de chaque matrice (feuilles de salades et zestes d'oranges) ont été prélevés à chaque essai, congelés puis lyophilisés. Les extraits ont ensuite été broyés à l'aide d'un blender durant 3 secondes afin d'obtenir une poudre fine et homogène. Les composés phénoliques des deux matrices végétales ont été extraits à partir de cette poudre.

IV.4.1.1 Extraction des composés phénoliques de la salade

La poudre de salade est solubilisée dans un mélange éthanol absolu/H₂O MilliQ (80/20 - g/g) additionnée de 0,5% (g/g) de métabisulfite de sodium afin de prévenir l'oxydation des composés phénoliques avec un ratio massique solvant/matrice végétale égal à 10. Les extraits sont agités en présence de billes de zirconium dans un broyeur SPEX MiniG® (Figure IV.1) à 1 200 tr/min pendant 1 min. Après 5 min de centrifugation à 13 000 G et à 5°C, le surnageant est récupéré, puis deux cycles d'extraction supplémentaires (solvant, homogénéisation, centrifugation) sont réalisés sur la matrice végétale résiduelle.

Les fractions liquides sont rassemblées puis évaporées sous argon. Le résidu obtenu est ensuite repris dans un mélange de solvant correspondant aux conditions initiales d'analyses UPLC dans un volume de 1 mL. L'extrait est filtré sur un filtre seringue 0,45 µm Phenex RC- (Phenomenex, Le Pecq, France) puis stocké à -20 °C en attente d'analyses.



Figure IV.1 : SPEX miniG.

IV.4.1.2 Extraction des composés phénoliques des écorces d'oranges

La poudre des écorces d'oranges est solubilisée dans un mélange de DMSO/MeOH (1/1-v/v) selon le protocole publié par Padilla de la Rosa et al., (2018). Le procédé d'extraction est le même que celui décrit pour la salade. Les fractions liquides sont rassemblées, filtrées sur un filtre seringue 0,45 μm Phenex RC (Phenomenex, Le Pecq, France) puis ajustées à un volume précis de 2 mL. Les extraits sont stockés à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en attente d'analyses.

IV.4.2 L'hydrodistillation : méthode d'extraction de référence pour les huiles essentielles

L'extraction de référence pour les huiles essentielles à partir d'écorces d'oranges est réalisée par hydrodistillation grâce à un montage classique (Figure IV.2) et un protocole établi en accord avec la Pharmacopée Européenne et à pression atmosphérique.

Une masse de 500 g d'écorces d'orange décongelées est insérée avec 3 L de H_2O MilliQ dans un ballon. Après installation et fermeture du montage, la mise en marche de la plaque chauffante est effectuée avec un réglage optimum du chauffage (ébullition régulée pour obtenir un débit en goutte à goutte en sortie du condenseur) pour permettre une stabilité de l'extraction à une vitesse constante et bien maîtrisée.

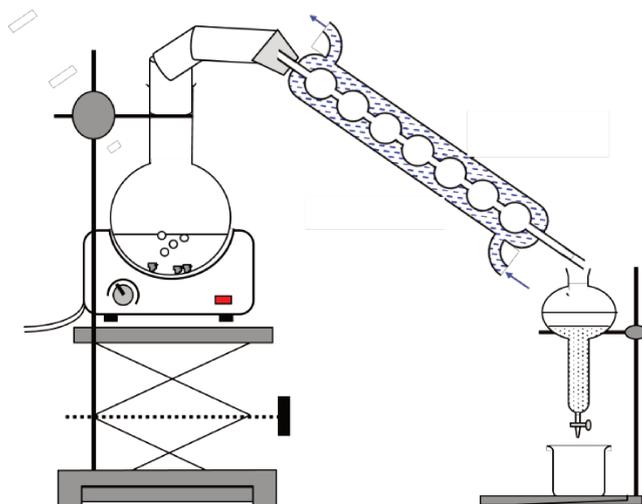


Figure IV.2 : Schéma d'un montage d'hydrodistillation.

Après passage dans le condenseur, l'eau et les molécules aromatiques, du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse inférieure (eau florale ou hydrolat) et une phase organique supérieure : l'huile essentielle. Cette dernière est séparée par simple décantation de l'eau florale. La durée totale de l'extraction est de 2 heures. L'huile essentielle est placée sur un desséchant type sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) afin d'éliminer toutes traces éventuelles d'eau, puis est pesée pour calculer le rendement de l'extraction. Elle est conservée dans des vials ambrés et hermétiquement fermés, puis stockés à $-20\text{ }^\circ\text{C}$ à l'abri de la lumière. Les hydrodistillations sont réalisées en triplicat.

IV.5 Extraction par micro-ondes et centrifugation (MO/C)

IV.5.1 Présentation de l'appareillage

L'extraction a été réalisée sur un pilote (Figure IV.3) installé à l'IFTS (Agen, France) qui permet une extraction sans solvant en combinant un chauffage par micro-ondes et une centrifugation. L'équipement utilisé combine :

- un générateur micro-ondes fourni par la société Sairem (Sairem GMP 12KSM B), fonctionnant à une fréquence de 2,45 GHz et disposant d'une puissance maximale délivrée de 1 200 W réglable par incréments de 10 W.

- uneessoreuse à axe vertical Robotel de 1984, avec un panier de 320 mm de diamètre, 200 mm de hauteur et 8,5 L de volume utile. L'effet centrifuge peut varier entre 0 et 2 862 G (*i.e.* 4 000 tr/min) en générant une accélération maximale de 2600 G mais il est préférable de ne pas utiliser des effets centrifuges inférieurs à 179 G (*i.e.* 1 000 tr/min) pour ne pas endommager le moteur de l'essoreuse pour cause de surchauffe de son moteur. Cependant des autorisations pour des manipulations ponctuelles et strictement surveillées peuvent avoir lieu en dessous de cette valeur (exemple : 3 extractions à 29 G (*i.e.* 400 tr/min) réalisées sur des jours différents avec un temps d'extraction de 40 min et une mesure de la température de l'axe de l'essoreuse toutes les 5 min pendant l'extraction avec un pyromètre infra-rouge ; la mesure ne doit pas dépasser les 70°C).

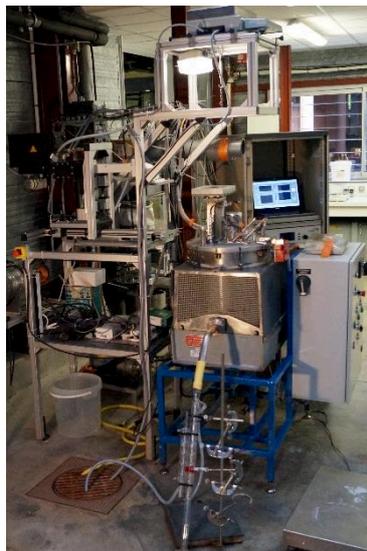


Figure IV.3 : Pilote couplant des micro-ondes et centrifugation disponible à l'IFTS

Pour permettre l'utilisation simultanée de la force centrifuge et des micro-ondes, et éviter d'endommager les équipements, la tête micro-ondes a été désolidarisée, du point de vue mécanique, du couvercle de l'essoreuse (Apaolaza, 2014) et a été fixée sur une structure rigide placée à côté de la machine. Cette problématique est liée à des balourds solides qui peuvent se produire lors de la distribution du produit quand la machine est en rotation entraînant des vibrations importantes qui conduiraient à un endommagement irréversible du générateur micro-ondes (*i.e.* rupture du filament du magnétron). Le guide d'onde a été conçu en deux

parties à l'intersection desquelles un système de piège à ondes sans contact a été spécifiquement conçu. Le générateur micro-ondes est disposé sur un chariot qui peut se déplacer horizontalement, ce qui permet l'ouverture et la fermeture du couvercle de l'essoreuse. Pour faciliter ce mouvement, le chariot autorise aussi un déplacement vertical, commandé par un vérin pneumatique. Ce dispositif permet d'éloigner le magnétron ainsi qu'une partie du guide d'onde de l'essoreuse (Figure IV.4).

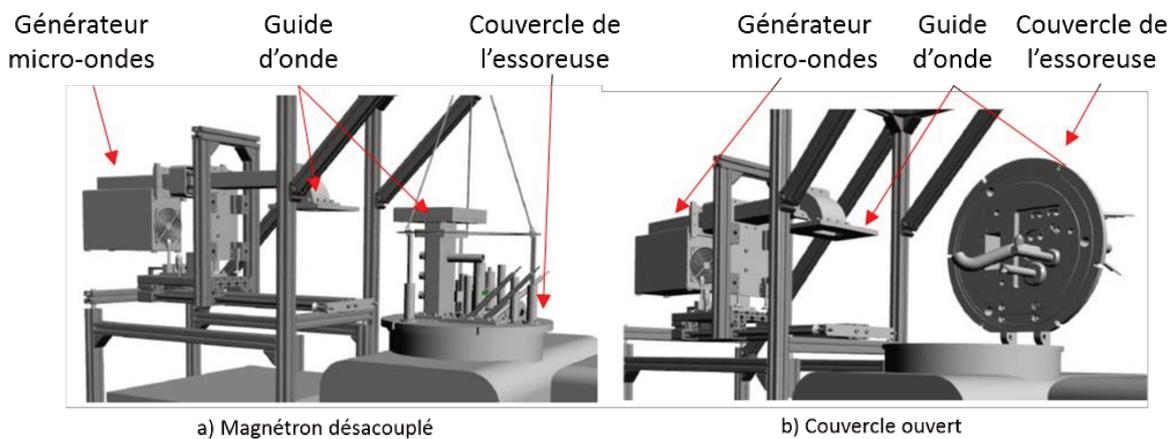


Figure IV.4 : Dispositif permettant l'ouverture de l'essoreuse (schéma : Apaolaza, 2014).

IV.5.2 Instrumentation du pilote

Au cours d'une expérience, plusieurs paramètres sont mesurés pour permettre le suivi de l'extraction et font appel à de nombreux capteurs. La complexité d'insérer des capteurs dans le pilote est liée à la petite taille du couvercle de l'essoreuse et à leur exposition à un champ électromagnétique sévère. Les capteurs ne sont pas capables de fonctionner dans un tel environnement sans être, soit fortement perturbés, soit endommagés. Pour éviter de telles conséquences, il est nécessaire d'utiliser des capteurs dont l'électronique peut être déportée à l'extérieur de la machine. Ce sont donc des capteurs sans contact, qui sont placés à l'extrémité d'un tube métallique de diamètre et de longueur tels que le champ électromagnétique ne peut se propager à l'intérieur (Figure IV.5). Ces derniers sont disposés, pour des raisons de simplicité et d'encombrement, sur le couvercle de la machine.

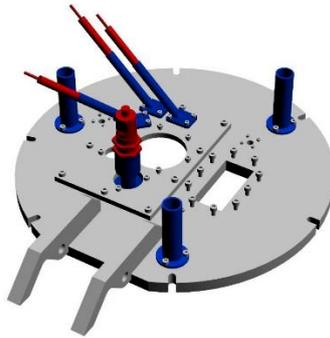


Figure IV.5 : Tuyaux métalliques assurant le piégeage des ondes disposés sur le couvercle de la machine (schéma : Apaolaza, 2014).

Le système doit également être étanche aux micro-ondes pour éviter les fuites. Le carter doit se comporter comme une cage de Faraday et assurer la continuité électrique entre les différentes parties de la machine grâce à des pièges à ondes positionnés au niveau des ouvertures du carter.

IV.5.2.1 Mesures de la vitesse de rotation et de la puissance micro-ondes

La vitesse de rotation de l'essoreuse est calculée grâce à la mesure d'un tachymètre composé d'un détecteur de contraste à fibre optique (Dinel DCF 966 S avec fréquence à 20 kHz). Il détecte le passage d'une ligne tracée sur l'axe de la machine. Cette mesure est essentielle pour mesurer la force centrifuge lors des différentes phases du procédé.

Concernant le chauffage diélectrique, l'objectif est de connaître l'énergie apportée au produit dans le pilote micro-ondes/centrifugation au cours de l'essai. Seules, des mesures de la puissance incidente et de la puissance réfléchie peuvent être effectuées.

La puissance incidente est calculée par le générateur micro-ondes à partir du courant, de la tension et du rendement du magnétron. La mesure de puissance dans un guide d'onde n'est pas directe. Il faut, tout d'abord, placer une antenne à l'intérieur du conduit. Le champ électromagnétique induit alors un courant dans l'antenne plongée dans le champ, et ce dernier donne une tension qui est mesurée dans le cristal détecteur à diode (Sairem PCEL 12KSM). Grâce à la connaissance de la répartition du champ électromagnétique à l'intérieur du pilote (les antennes sont placées dans les endroits où l'amplitude du champ électrique est connue), la puissance micro-ondes peut être calculée.

Pour mesurer la puissance réfléchi, le positionnement de l'antenne qui a été plongée dans le champ électromagnétique est primordial. Il doit considérer l'endroit où seule l'onde réfléchi est présente. La meilleure position pour placer cette antenne est après le circulateur, qui sépare la puissance incidente et la puissance réfléchi, et avant la charge à eau qui la dissipe (Figure IV.6).

Les valeurs des puissances incidente et réfléchi sont suivies au cours du temps grâce à l'ordinateur de pilotage.

La puissance réfléchi est ajustée pendant l'essai grâce à un système d'adaptation d'impédance constitué de trois tiges en laiton dont l'enfoncement dans le guide d'onde est réglable. Au cours d'une extraction, il est important que la puissance réfléchi reste inférieure à 20 % de la puissance incidente pour éviter d'endommager le générateur micro-ondes.

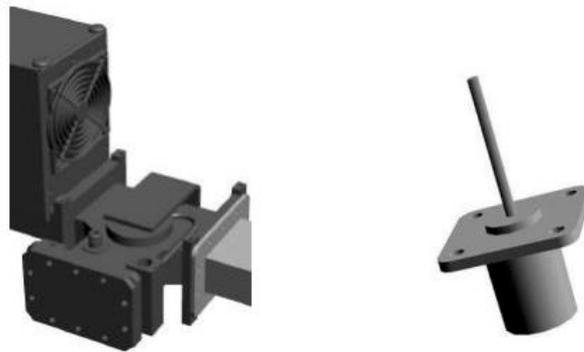


Figure IV.6 : Position de l'antenne de mesure de la puissance réfléchi – Antenne (schéma : Apaolaza, 2014).

IV.5.2.2 Mesures de températures

La température de surface du produit inséré dans le pilote est mesurée grâce à trois pyromètres infra-rouge implantés à trois hauteurs différentes : à 50 mm, 100 mm et 150 mm du fond du panier d'essorage. Les pyromètres utilisés sont des Optris CS, avec une étendue de mesure de - 40°C à 1 030°C et une précision de $\pm 1,5^\circ\text{C}$. Les capteurs sont déportés à l'extérieur de l'essoreuse pour ne pas être soumis au champ électromagnétique qui règne dans l'enceinte. Ils sont utilisés pour les extractions de la salade.

La température des parois du carter et du cœur de la matrice végétale à l'intérieur du système est mesurée par des thermo-boutons autonomes de la taille d'une pile de montre (Plug & Track 22T, de précision de $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ et enregistrements toutes les minutes) (Figure IV.7). Ils sont recouverts de scotch aluminium pour les protéger du champ électromagnétique (la mesure n'est pas perturbée par le scotch aluminium en raison de sa bonne conductivité thermique). Avant de commencer l'extraction, ils sont disposés au contact du panier et de la matrice végétale et enregistrent la température du produit.



Figure IV.7 : Thermo-boutons Plug & Track 22 T.

A la fin de l'extraction, l'ensemble des données est collecté puis traité sur un ordinateur *via* le logiciel Thermo Track PC, Proges Plus® qui fournit un fichier donnant la température en fonction du temps. Ils ont été utilisés pour mesurer la température à cœur des écorces d'oranges pendant les extractions.

La disposition des différents capteurs est représentée sur la Figure IV.8 avec les trois pyromètres implantés sur le couvercle de l'essoreuse et les thermo-boutons au contact de la matrice végétale et du panier métallique.

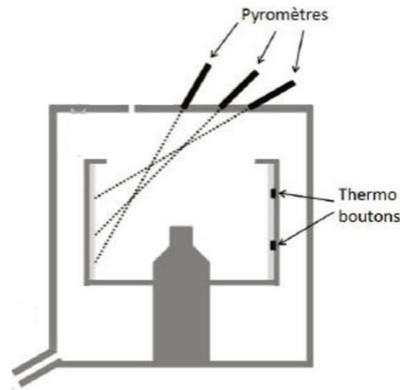


Figure IV.8: Schéma d'implantation des différents capteurs de température utilisés (schéma : Apaolaza, 2014).

IV.5.2.3 Evaluation de la consommation énergétique au cours des extractions sur le pilote

Un des objectifs de cette étude étant de montrer l'intérêt du couplage essorage/chauffage par micro-ondes du point de vue énergétique, deux compteurs électriques permettant de mesurer la consommation électrique de l'essoreuse et du générateur de micro-ondes ont été implantés. Les données sont mesurées par des compteurs d'énergie monophasés (Legrand 046 70) qui envoient une pulsation tous les 0,5 Wh.

IV.5.2.4 Collecte des données d'acquisition

Les données sont collectées *via* une centrale d'acquisition compacte DAQ National Instrument (Figure IV.9) et un programme de supervision réalisé sous le logiciel LabVIEW.

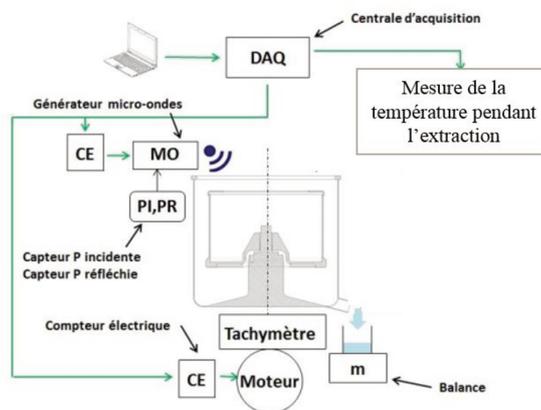


Figure IV.9: Implantation générale des capteurs et des actionneurs (schéma : Apaolaza, 2014).

IV.5.3 Dispositifs mis en place sur le pilote pour le déroulement d'une extraction

IV.5.3.1 Configuration ouverte et configuration fermée du pilote

Le couvercle de la machine a été conçu pour permettre l'injection d'air à température et humidité contrôlées via une ouverture centrale. Par ailleurs, d'autres orifices utilisés pour placer des capteurs ou mettre en œuvre un dispositif de double pesée (Apaolaza, 2014) sont aussi présents sur le couvercle. Le pilote peut être utilisé dans deux configurations d'utilisation différentes : ouverte ou fermée. La configuration fermée se caractérise par l'obturation de toutes les entrées d'air au nombre de quatre, situées sur le couvercle de l'essoreuse au moyen d'un adhésif métallique. L'écoulement d'air induit dans la machine est alors presque en totalité supprimé. Par opposition, la configuration ouverte permet la libre circulation de l'air extérieur dans le pilote par une entrée située au centre du couvercle de l'essoreuse qui permet, dès l'action de la vitesse de rotation, d'aspirer de l'air du fait de la convection forcée dans la machine tournante (Figure IV.10). La configuration fermée permet de limiter les fuites au cours d'extraction contrairement à l'utilisation de la configuration ouverte. Dans le cas de la salade la configuration fermée a été utilisée et une comparaison des deux configurations lors de pré-tests avec les écorces d'oranges a été réalisée.

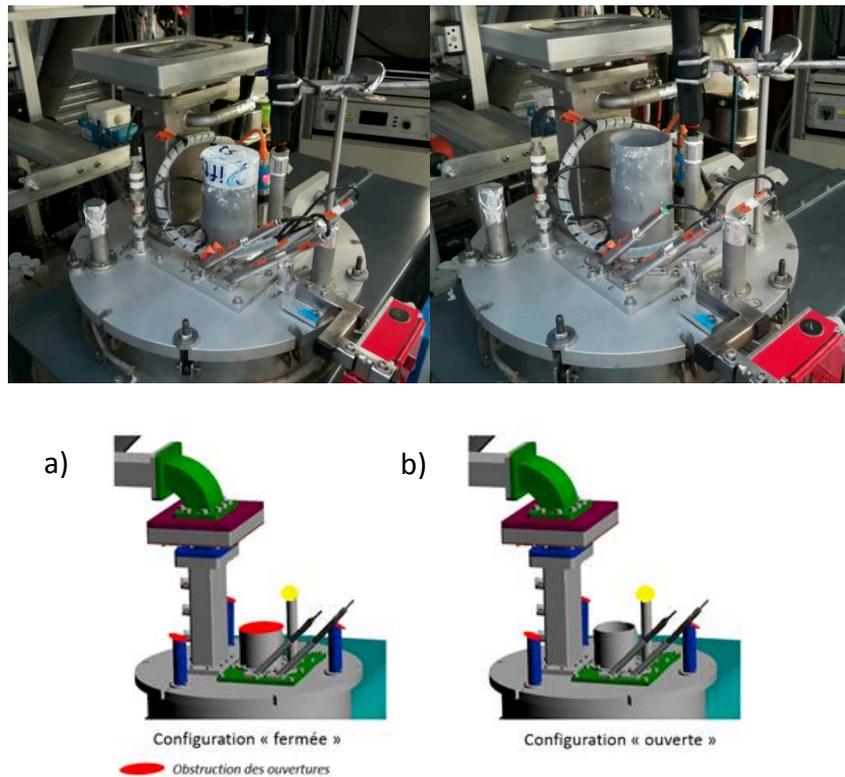


Figure IV.10 : Photos et schémas du pilote en configuration fermée (a) ou ouverte (b) (schéma : Apaolaza, 2014).

IV.5.3.2 Paniers et outils de filtration

Le panier présenté en Figure IV.11a est utilisé pour les extractions de la salade et des écorces d'oranges additionné d'une toile en propylène ouverte et perméable pour les extractions des écorces d'oranges afin d'améliorer la filtration (Figure IV.11b).

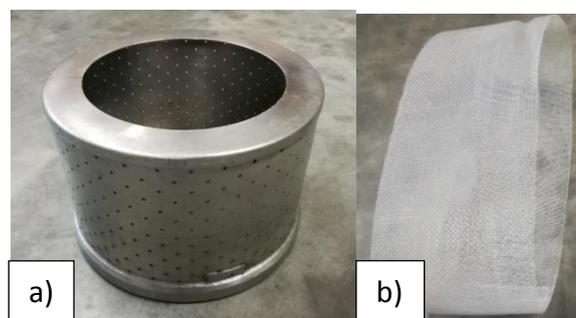


Figure IV.11 : a) panier d'essorage utilisé pour les extractions sur le pilote ; b) toile en polypropylène pouvant être insérée dans le panier.

IV.5.3.3 Injection de vapeur d'eau au cours de l'extraction

Pendant l'extraction sur le pilote, de la vapeur d'eau peut être injectée afin de maximiser le rendement en composés d'intérêt. Elle a aussi pour but d'humidifier la matrice en continu, d'éviter également la combustion et l'apparition de points chauds liés à l'utilisation des micro-ondes. Ainsi, des composés peuvent être extraits à partir de matrices sèches avec le procédé MO/C et l'injection de vapeur grâce au Kärcher® SC 1702 (Figure IV.12a). Il contient un volume maximum de 2 litres et un débit de vapeur équivalent à 4 L/h. Une fois la brosse retirée, le manche avec le pistolet (Figure IV.12b) est relié à la machine par une buse d'alimentation implantée sur le couvercle du pilote permettant d'injecter la vapeur d'eau au milieu du panier perforé (Figure IV.12c). L'injection de vapeur d'eau a été utilisée au cours des extractions avec les écorces d'oranges.

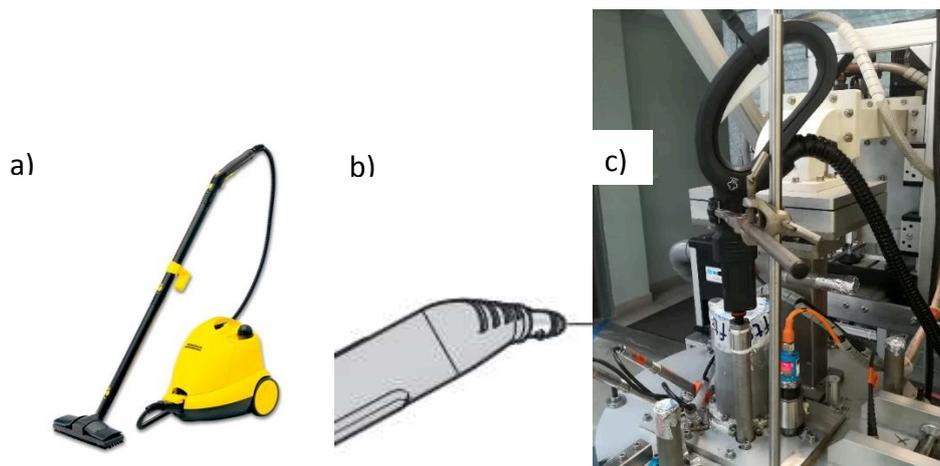


Figure IV.12 : a) Kärcher® SC 1702, b) pistolet disponible une fois la brosse retirée, c) adaptation sur le pilote.

Un second générateur de vapeur a été utilisé pour des extractions, le Kärcher® SC 1702 étant tombé en panne pendant la thèse. Le générateur de vapeurs d'eau Vaporetto® Smart 100_B® (Figure IV.13) a été utilisé. Son débit de vapeur d'eau est estimé à 2 L/h (position de débit maximal sur la molette présente sur l'appareil).



Figure IV.13 : Générateur de vapeur Vaporetto® Smart 100_B.

Le Kärcher® SC 1702 sera noté générateur de vapeur A et le Vaporetto® Smart 100_B, générateur de vapeur B.

IV.5.3.4 Condenseurs

Deux condenseurs ont été utilisés durant cette thèse. Le premier en verre était suffisant pour refroidir les extraits de salade contenant des composés phénoliques. En revanche, la surface d'échange ne permettait pas de condenser toutes les vapeurs lorsqu'elles étaient chargées en composés volatils comme dans le cas de l'extraction des huiles essentielles.

Concernant les écorces d'oranges, le second condenseur utilisé pour les extractions sur le pilote a été conçu par l'IFTS et est constitué de 6 m de tuyau en acier inoxydable de diamètre extérieur de 21 mm. Cet échangeur n'est pas relié à un circuit secondaire car le seul fait qu'il soit rempli d'eau permet un refroidissement suffisant du liquide s'écoulant dans le circuit primaire (Figure IV.14). Son volume mort (liquide qui reste piégé dans les tuyaux) a été déterminé avec de l'eau ; il est égal à $45,5 \pm 2,5$ mL.



Figure IV.14 : Condenseur utilisé pendant les extractions MO/C des écorces d'oranges.

IV.5.3.5 Mesures de la vitesse de l'air

Afin de mieux comprendre la circulation d'air et de la vapeur d'eau lors de l'extraction sur le pilote, une série d'expériences a été réalisée en mesurant la vitesse de l'air en sortie du pilote grâce à un anémomètre à hélices Chauvin Arnoux C.A 1052 ($\pm 0,01$ m/s) (Figure IV.15).



Figure IV.15 : Anémomètre à hélices Chauvin Arnoux 1052.

Pour étudier l'aérodynamique du pilote, l'anémomètre et le générateur de vapeur d'eau ont été utilisés. Toutes les manipulations ont été réalisées avec le panier d'essorage dans des conditions standards de température (20°C) et de pression (pression atmosphérique). La vitesse de l'air est mesurée en sortie du pilote. Afin de limiter les pertes de flux entre la sortie du tube d'évacuation du pilote et l'anémomètre, un entonnoir en carton a été fabriqué pour fiabiliser des mesures réalisées. Il est recouvert d'aluminium pour assurer une protection lors de l'utilisation de vapeur d'eau qui impose, bien souvent la collecte d'un mélange de liquide et de vapeur d'eau en sortie du pilote (Figure IV.16). Les mesures sont réalisées à différents effets centrifuges : de 29 G à 2 862 G (*i.e.* de 1 000 à 4 000 tr/min).



Figure IV.16 : Installations nécessaires pour réaliser les mesures de vitesses d'air avec l'anémomètre à hélices.

IV.5.3.6 Statistiques – Plan d'expériences

Un plan d'expérience de type Box-Wilson, également appelé plan Composite Centré (CCD : Central Composite Design), a été utilisé pour obtenir des conditions optimales de l'extraction sur le pilote avec un nombre minimal d'expériences possibles. Les modèles expérimentaux utilisés ont été construits et les résultats expérimentaux ont été traités en utilisant le logiciel STATGRAPHICS® Centurion 18.1.12. Deux facteurs indépendants (la densité de puissance micro-ondes et la vitesse de rotation ou effet centrifuge) sont évalués, ainsi que l'interaction éventuelle entre ces variables. Tous les facteurs sont étudiés à cinq niveaux ($-\alpha$, -1 , 0 , $+1$, $+\alpha$). La réponse d'optimisation sélectionnée est le rendement de molécules d'intérêt extraites lors de l'extraction sur le pilote.

Le plan d'expérience choisi présente les caractéristiques suivantes (Bezerra et al., 2008) :

- le nombre total d'expériences (N) est donné $N = k^2 + 2k + c_p$, où k est le nombre de variables et c_p est le nombre de répétitions du point central. Dans notre cas, deux variables sont choisies ainsi que le nombre de répétitions au centre soit 6, par conséquent le nombre d'expériences total est de 14.
- les « points étoiles » sont à une distance α du centre du domaine et les valeurs de α sont calculées par $\alpha = \sqrt[4]{nf}$ où nf représente k^2 , la valeur α est donc de 1,41;

Les valeurs limites de chaque gamme de variable sont choisies en fonction des limitations du pilote (paramètres minimum et maximum disponibles dans le dispositif). Le temps

d'extraction est fixé ainsi que la masse de matrice végétale insérée dans le pilote en début d'extraction.

Ainsi, 14 expériences ; comprenant six répétitions au centre pour évaluer la répétabilité des essais sont exécutées de façon aléatoire pour éviter les effets des variables externes. Il en est déduit la répétabilité du dispositif ainsi que l'influence de chacun des paramètres sur la réponse sélectionnée et les valeurs optimales.

IV.5.4 Protocole opératoire

La matrice végétale (1 kg de salade fraîche ou 500 g d'écorces d'oranges décongelées) est insérée dans le panier en acier. Un bon équilibrage du produit doit être effectué pour éviter les balourds solides lors de l'application de la vitesse de rotation. Une fois la centrifugation en marche (de 179 G à 2 862 G, *i.e.* 1 000 tr/min à 4 000 tr/min), la puissance micro-ondes est appliquée (de 0 à 1 200 W) pendant un temps donné qui est fonction de la puissance réfléchie. Cette dernière ne doit pas dépasser 20 % de la puissance incidente pour un bon déroulement de l'extraction. Au cours de l'extraction par MO/C, l'extrait est libéré par chauffage interne de l'eau intracellulaire, puis il est expulsé contre le panier par la vitesse de rotation et entraîné par gravité dans un condenseur refroidi à 4°C. Ensuite, l'application des micro-ondes est stoppée et une phase d'essorage finale a lieu pour récupérer la totalité de l'extrait, puis un temps de repos avant d'ouvrir le pilote est fixé à quinze minutes pour permettre un refroidissement de la machine et du résidu solide.

La matrice végétale après extraction MO/C est récupérée et conservée pour des extractions et des analyses complémentaires si nécessaire. Les fractions liquides collectées sont stockées à -20°C en attente d'analyse. Les extractions sont réalisées en triplicat excepté celles obtenues lors du plan d'expériences car celui-ci évalue déjà la répétabilité des résultats donnés par le pilote.

Lors de l'extraction de la salade, les fractions liquides sont prélevées tous les 100 mL pour pouvoir réaliser un suivi cinétique d'extraction. Pour les écorces d'oranges, deux phases sont normalement obtenues : la première est apolaire et contient les huiles essentielles et la seconde est aqueuse, l'hydrolat ou l'eau florale.

Le temps d'extraction est fixé selon les conditions opératoires maximales, à savoir (1 200 W et 2 862 G) avant combustion de la matrice végétale.

IV.6 Extraction par micro-ondes combinant l'hydrodiffusion et la gravité (MHG)

L'extraction a été réalisée dans un four micro-ondes de laboratoire NEOS-GR, partenariat entre l'Université d'Avignon (Avignon, France) et la société Milestone (Bergame, Italie). L'appareil est enregistré sous le brevet européen EP 1 955 749 A1. Il délivre une puissance maximale de 1 000 W (réglable par incréments de 10 W) à l'aide de deux magnétrons de 800 W fonctionnant à une fréquence de 2,45 GHz. Le temps et la température peuvent être contrôlés par des programmes pilotés par icônes sur un écran tactile situé sur le front du four, offrant ainsi un contrôle complet des paramètres de la méthode d'extraction. Les températures sont mesurées grâce à un pyromètre infrarouge. L'enceinte du four micro-ondes présente une cavité multimode recouverte de polytétrafluoroéthylène (Téflon ou PTFE).

Le montage élaboré est présenté dans la Figure IV.17. Il est constitué d'un réacteur en verre placé dans l'enceinte du four micro-ondes raccordé au montage situé à l'extérieur de la cavité du four par le biais d'une colonne en verre. Le système de réfrigération est composé d'un condenseur à serpentin, orienté verticalement afin de respecter l'orientation initiale du flux provenant du réacteur, d'assurer une condensation et un refroidissement maximal du fluide hydrodiffusé. Ainsi, un liquide le moins chaud possible est obtenu pour éviter une dégradation thermique éventuelle des molécules thermosensibles, ce fluide étant susceptible de contenir des molécules d'intérêt (composés phénoliques, huiles essentielles). Ce système de refroidissement est raccordé à son tour à un récipient adéquat pour recueillir l'extrait souhaité.

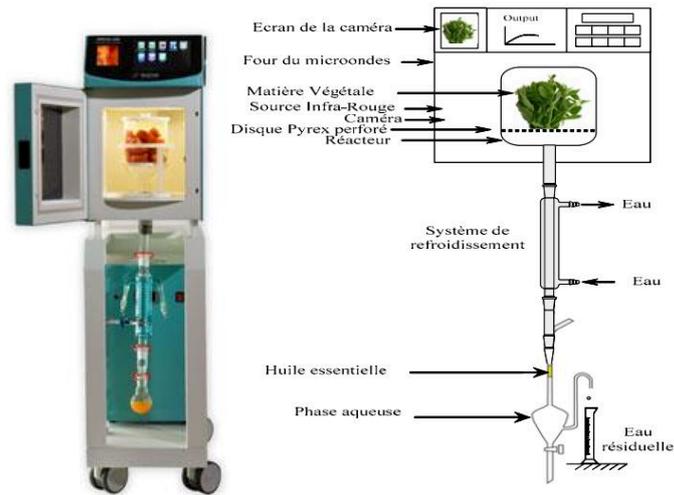


Figure IV.17 : Montage de l'extraction Micro-ondes combinant Hydrodiffusion et Gravité (MHG).

Le protocole utilisé est celui décrit par (Périno et al., 2016; Zill-e-Huma et al., 2009).

Une masse de 300 g de salade fraîche est lavée pour éliminer les résidus de terre et insérée dans un réacteur Pyrex 4 L. La température est évaluée par un capteur infrarouge externe (IR). Après application des micro-ondes et une élévation de température suffisante (100°C), l'extrait est récupéré dans un récipient par gravité après passage dans un condenseur dont la température de l'eau est fixée à 4°C. La densité de puissance a été réglée entre 0,3 W/g et 1,5 W/g et la durée de l'extraction fixée à 30 minutes. Les fractions ont été recueillies tous les 20 mL pour évaluer la cinétique d'extraction des composés phénoliques au cours du processus. Les fractions sont stockées à -20°C en attente d'analyse.

IV.7 Méthodes Analytiques

IV.7.1 Teneur en matière sèche

La détermination de la teneur en matière sèche (MS) de la matrice a été réalisée en plaçant dans un four à 105°C un aliquote de matrice végétale (salade fraîche ou écorces d'oranges décongelées) jusqu'à l'obtention d'une masse constante. La teneur en matière sèche est exprimée en pourcentage sur la base du poids de l'échantillon et est donnée par la relation suivante :

$$\text{Pourcentage de la matière sèche est : MS (\%)} = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} \times 100$$

avec m_0 , la masse du contenant vide ; m_1 , la masse de l'échantillon humide ; m_2 , la masse après séchage.

IV.7.2 Microscope à Balayage Electronique (MEB)

Les microstructures de l'écorce d'orange avant et après extraction selon différentes techniques ont été analysées à l'aide d'un microscope électronique à balayage (XL30, FEI Philips, France). Les techniques étudiées sont les micro-ondes (2W/g), la centrifugation (200 G), les micro-ondes couplées à la centrifugation (2W/g et 200 G) et l'hydrodistillation. Pour les observations, les échantillons ont été soigneusement collectés après avoir été soumis à la technique d'extraction. Ensuite, afin de fixer leur structure, ils ont été trempés dans 2,5 % (v/w) de glutaraldéhyde préparé dans une solution tampon de cacodylate de sodium 0,1 M, pH 7,2 pendant 1 heure. Ils ont ensuite été lavés à trois reprises pendant 30 min à chaque fois avec la même solution tampon. Ils ont été conservés à 4°C avant d'être post-fixés avec du tétr oxyde d'osmium (dilué à 1 % (v/v)) et du tampon sodique de cacodylate 0,1 M, pH 7,2 pendant 1 heure. Ensuite, ils ont été rincés à l'eau distillée à trois reprises pendant 3 min. Puis, les échantillons ont subi une série de déshydratation graduée en présence d'éthanol absolu (30 %, 50 %, 70 %, 90 % pendant 5 min chacun et 100 % pendant 2 fois 10 min) et d'hexaméthylsilazane (HDMS) - Éthanol (1/1 en volume) pendant 10 min, puis une déshydratation avec HDMS pendant 5 min. La dernière étape du processus de déshydratation consistait en un trempage dans un bain de HDMS jusqu'à évaporation complète.

Les échantillons ont ensuite été montés sur des embouts en aluminium, et recouverts d'une couche d'or (SCS 004, BALZERS) par pulvérisation cathodique.

Ils ont été observés par microscopie électronique à balayage sous vide poussé à 10 kV. Un détecteur d'électrons secondaires a été utilisé. Les conditions d'observation sont données sur les images prises, notamment l'échelle et le zoom utilisés.

IV.7.3 Analyses quantitatives et qualitatives des composés phénoliques

IV.7.3.1 Test de Folin-Ciocalteu : Composés Phénoliques Totaux

Cette méthode permet un dosage global des composés phénoliques dans des extraits. La réaction est basée sur la réduction du réactif phosphotungstique-phosphomolybdate en milieu légèrement alcalin par les ions phénolates (Singleton and Rossi, 1965). Une coloration bleue se forme en présence de phénols indépendamment de la nature du noyau phénolique. Ce chromophore présente un maximum d'absorption à 760 nm proportionnel à la quantité de composés phénoliques présents dans les extraits.

Le protocole utilisé est adapté de Bujor et al., (2016).

Un aliquote de l'extrait phénolique brut est dilué dans H₂O MilliQ suivant sa concentration en composés phénoliques de manière à obtenir lors de la mesure une absorbance inférieure à 0,5.

Un volume de 100 µL d'aliquote est acidifié à pH 3,5 avec de l'acide chlorhydrique à 0,1 M. Un aliquote de la solution est dilué avec 2,4 mL d'eau et 0,250 g de polyvinylpyrrolidone insoluble (PVPP). Après 10 min d'agitation à température ambiante, la solution est centrifugée (10 min à 10 000 tr/min). L'extrait obtenu sera utilisé comme blanc lors de la mesure par spectrophotométrie.

Pour les mesures, dans un tube à essai, sont ajoutés à 0,1 mL d'extrait brut dilué, 0,5 mL de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans H₂O MilliQ puis après 2 min d'agitation, 1,9 mL de la solution de Na₂CO₃ 20 % qui rend le milieu alcalin favorisant la réaction. Les tubes bouchés sont agités au vortex et placés 90 min à l'obscurité et à température ambiante. Les absorbances sont lues à 760 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée avec une solution d'acide caféoylquinique de 0 à 80 µg/mL et traitée dans les mêmes conditions.

Pour le blanc du spectrophotomètre à 760 nm, l'extrait est remplacé par 1 mL d'H₂O MilliQ. La valeur obtenue pour l'échantillon traité au PVPP est soustraite à la valeur obtenue pour l'extrait brut.

Les valeurs sont comparées à la courbe d'étalonnage et les résultats sont exprimés en équivalents d'acide caféoylquinique pour 100 g de matière fraîche noté EACQ/ 100 g MF. Les dosages sont réalisés en triplicats.

IV.7.3.2 Analyse par chromatographie liquide ultra-haute performance (UPLC)

IV.7.3.2.1 Identification des composés phénoliques par spectrométrie de masse

Pour les études qualitatives, les extraits ont été analysés par chromatographie en phase liquide Ultra Performance (UPLC) sur le système ACQUITY UPLC® (Waters Corp., Milford, MA, USA) relié simultanément à un détecteur à barrette de diodes (190-800 nm, UPLC DAD, Waters, Milford, MA, USA) et un spectromètre de masse MS Ultra Trap Bruker Daltonics HCT équipé d'une source d'ions électrospray (UPLC DAD / ESI-MSn). L'ensemble est piloté grâce au logiciel Compass™ (Bruker Daltonics, Bremen, Allemagne) qui permet également le traitement de données. Le piège à ions a été utilisé en mode Ultra Scan de m/z 120 à 1 200. La cible ICC a été définie sur 100 000 avec un temps d'accumulation maximal de 100 ms. Les paramètres de source d'ionisation ont été fixés comme suit : température de séchage à 365°C, pression de nébulisation à 60 psi, débit d'azote sec (gaz de désolvatation de pureté 99,99 %) à 8 L/min, voltage du capillaire à +2,5 kV en mode négatif pour les acides hydroxycinnamiques, les flavonols et à -2,0 kV en mode positif pour les méthoxyflavanones. Les composés phénoliques ont été détectés à 280, 330 et 360 nm selon leur famille et identifiés par leurs spectres UV-vis et leur spectre de masse par comparaison avec les données bibliographiques.

La séparation des composés phénoliques a été obtenue sur une colonne ACQUITY UPLC® C18T3 HSS (50 mm x 2,1 mm, id 1,8 μ m, Waters Corp., Milford, MA, USA) maintenue à une température de 35°C. La phase mobile était constituée de H₂O MilliQ contenant 0,05 % de HCOOH (solvant A) et d'un solvant B différent selon la matrice végétale choisie :

- pour les extraits de salade, le solvant B était un mélange MeOH/CH₃CN/H₂O-3/1/1 selon le gradient défini dans le Tableau IV.4 avec un débit de 0,21 mL/min et un volume d'injection de 5 μ L ;
- pour les extraits d'écorces d'oranges, le solvant B était l'acétonitrile (CH₃CN) selon le gradient défini dans le Tableau IV.5 avec un débit de 0,4 mL/min et un volume d'injection de 3 μ L.

Les composés phénoliques ont été détectés à 280, 330 et 360 nm et ils sont identifiés par comparaison de leur profil d'absorption en UV-Visible et de leur temps de rétention par rapport aux données obtenues en spectrométrie de masse.

Tableau IV.4: Gradient d'élution en B (%) pour les analyses UPLC d'extraits de salade.

Temps (min)	0-3	3-7	7-8	8-10	10-13	13-14	14-17
Gradient d'élution en B (%)	10-25	25	25-30	30-50	50	50-10	10

Tableau IV.5 : Gradient d'élution en B (%) pour les analyses UPLC d'extraits d'écorces d'oranges.

Temps (min)	0-15	15-20	7-8	20-21	21-22	22-24
Gradient d'élution en B (%)	0-30	30-70	25-30	70-100	100	0

IV.7.3.2.2 Quantification des composés phénoliques par UPLC

Les composés phénoliques sont quantifiés par étalonnage externe avec des standards sélectionnés selon la matrice végétale aux longueurs d'onde choisies en fonction de leur absorbance maximale par chromatographie en phase liquide ultra performance (UPLC) à l'aide d'un système ACQUITY UPLC® (Waters Corp., Milford, MA, États-Unis) associé à un détecteur à barrette de diodes (190-800 nm, UPLC DAD, Waters, Milford, MA, USA). Le logiciel Empower™ 2 (Waters) a été utilisé pour le contrôle des instruments et l'intégration des chromatogrammes obtenus.

Le standard utilisé pour la quantification des composés phénoliques des extraits de salade est l'acide chlorogénique, ou l'acide 3-O-caféoylquinique noté ACQ, les composés hydroxycinnamiques étant largement majoritaires dans les extraits.

Pour la quantification des composés phénoliques présents dans les extraits d'écorces d'oranges, les standards ont été sélectionnés pour chaque famille : l'hespéridine pour les flavanones, la tangéritine pour les flavones et l'acide férulique pour les dérivés hydroxycinnamiques.

Des solutions mères de chaque standard ont été préparées à la concentration de 1 mg/mL et diluées de 10 à 100 µg/mL, dans H₂O MilliQ pour l'acide caféoylquinique, dans le méthanol pour l'acide férulique et dans le DMSO pour la tangéritine et l'hespéridine. Les gammes étalons sont analysées dans les mêmes conditions que les extraits correspondants.

IV.7.4 Analyses qualitatives et quantitatives des huiles essentielles

IV.7.4.1 Identification des composés présents dans les huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CG/MS)

Un volume de 1 µL d'huile essentielle diluée (10 µL dans 1 mL d'hexane) a été injecté dans l'appareil de chromatographie gazeuse CG/MS QP2010 (Shimadzu, Kyoto, Japon) sur deux colonnes capillaires en silice avec différentes phases stationnaires : TG-5MS 30 x 0,25 mm x 0,25 µm (phase apolaire) et TG-WAX 30 mx 0,25 mm x 0,5 µm (phase polaire). Les conditions chromatographiques étaient les suivantes : injecteur à 250°C en split (rapport de split 20) ; programme de température du four : température initiale de 50°C, puis augmentée à 2°C/min jusqu'à une température finale de 240°C. Le gaz vecteur était de l'hélium à 35 cm/s. Les spectres ont été enregistrés en ionisation par impact électronique à 2 balayages/s, (70 eV) entre 29 et 300 m/z.

L'identification des composés a été réalisée par comparaison du spectre de masse et de l'indice de rétention (Indices de Kovats) avec les bibliothèques commerciales (Base de données de spectres de masse : NIST08 ; Base de donnée d'indice de rétention : <http://www.pherobase.com>). Les indices de rétention sont calculés à partir d'une série d'alcane linéaires (C₇-C₃₀) à 100 µg/mL par composé injecté sur les deux colonnes.

Le calcul des indices de rétention linéaire (Retention Index) est donné par la relation suivante :

$$IR = 100 \times \left(\frac{t_{Ri} - t_{Rz}}{t_{R(z+1)} - t_{Rz}} + z \right)$$

avec IR , indice de rétention ; t_{Ri} , temps de rétention du pic de l'échantillon ; t_{Rz} , temps de rétention de l'alcane élué avant le pic ; $t_{R(z+1)}$, temps de rétention de l'alcane élué après le pic et z , nombre de carbone de l'alcane élué avant le pic.

Les résultats pour la colonne polaire (TG-WAX) servent de confirmation pour l'identification réalisée grâce à la colonne apolaire TG5.

IV.7.4.2 Analyse quantitative des composés présents dans les huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CG/FID)

La composition de l'huile essentielle a été déterminée par CG/FID en utilisant les mêmes conditions chromatographiques que l'analyse par CG/MS. La composition a été déterminée en calculant le rapport entre la surface d'un pic d'un composé considéré et la somme des aires de tous les pics des composés présents dans l'extrait selon la formule suivante :

$$(\%) i = \frac{\text{Aire } i}{\sum \text{des aires de tous les pics de l'échantillon}}$$

avec i , un composé de l'échantillon.

Ce calcul a été réalisé pour chaque composé identifié dans les huiles essentielles d'écorces d'oranges.

IV.8 Références

- Apaolaza, X., 2014. Déshydratation assistée thermiquement couplant essorage et micro-ondes. Université de Bordeaux 1.
- Bezerra, M.A., Santelli, R.E., Oliveira, E.P., Villar, L.S., Escaleira, L.A., 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta* 76, 965–977.
- Bujor, O.-C., Le Bourvellec, C., Volf, I., Popa, V.I., Dufour, C., 2016. Seasonal variations of the phenolic constituents in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves, stems and fruits, and their antioxidant activity. *Food Chem.* 213, 58–68.
- Padilla de la Rosa, J., Ruiz-Palomino, P., Arriola-Guevara, E., García-Fajardo, J., Sandoval, G., Guatemala-Morales, G., 2018. A Green Process for the Extraction and Purification of Hesperidin from Mexican Lime Peel (*Citrus aurantifolia* Swingle) that is Extendible to the Citrus Genus. *Processes* 6, 266.
- Périno, S., Pierson, J.T., Ruiz, K., Cravotto, G., Chemat, F., 2016. Laboratory to pilot scale: Microwave extraction for polyphenols lettuce. *Food Chem.* 204, 108–114.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144–158.
- Zill-e-Huma, Abert Vian, M., Maingonnat, J.F., Chemat, F., 2009. Clean recovery of antioxidant flavonoids from onions: Optimising solvent free microwave extraction method. *J. Chromatogr. A* 1216, 7700–7707.

Chapitre V. Extraction des composés phénoliques de la salade

Development of microwave-assisted dynamic extraction by combination with centrifugal force for polyphenols extraction from lettuce. (2018). LWT, 98, 283-290.

A. Angoy, M. Valat, P. Ginisty, A. Sommer, P. Goupy, C. Caris-Veyrat, and F. Chemat.

V.1 Introduction

L'objectif de cette étude a été d'évaluer l'extraction potentielle de composés phénoliques à partir de la salade (*Lactuca sativa* L.) utilisée comme produit modèle pour réaliser une extraction sur le pilote Micro-Ondes/Centrifugation (MO/C). La salade est un bon modèle car elle a une faible densité apparente ce qui permet d'éviter les balourds solides dans l'essoreuse. Elle contient plus de 94 % d'eau. Elle est considérée comme une source de nutriments (antioxydants naturels) (Altunkaya et al., 2009; Llorach et al., 2008), et comme un aliment sain (DuPont et al., 2000; Mulabagal et al., 2010). La salade est largement utilisée en restauration, dans les industries agroalimentaires et chez les particuliers avec une consommation estimée par ménage, toutes variétés confondues, à 5,3 kg par an dans le monde (Kantar worldpanel, moyenne 2012-2014). De précédentes études (Llorach et al., 2004, 2008) montrent la présence de deux principales familles de composés phénoliques : les dérivés hydroxycinnamiques et les flavonols.

Une première partie de ce travail a porté sur l'évaluation du pilote et de son adaptabilité au domaine de l'éco-extraction du végétal. Comme déjà indiqué dans le Chapitre II, le pilote présente des limitations inhérentes à sa configuration et à sa conception initiale :

- l'extrait est collecté nécessairement par le bas du pilote puisqu'il est déjà dans une configuration type MHG (« *Microwave Hydrodiffusion and Gravity* ») ;
- la puissance micro-ondes maximale est limitée à 1 200 W ;
- la vitesse de rotation maximale est de 4 000 tr/min (*i.e.* 2 862 G) et minimale (autorisée pour trois essais) de 400 tr/min (*i.e.* 29 G) ;
- le pilote n'est pas étanche à l'air ;
- le volume utile du panier est limité à 8,5 L.

Des pré-tests d'extraction sur la salade avec des paramètres déterminés arbitrairement sur le pilote comme la masse de matrice végétale, le temps d'extraction, la puissance micro-ondes et la vitesse de rotation appliquées ont été effectués pour étudier la possibilité de récupérer un extrait liquide. L'influence de la vitesse de rotation pendant l'extraction MO/C, de façon directe ou indirecte sur les rendements d'extraction a été évaluée. Dans le cadre de cette étude, deux types d'extractions ont été comparées : l'extraction par micro-ondes couplée à une vitesse de rotation minimale (MO/R, 400 tr/min) et l'extraction par micro-ondes couplée

à une vitesse de rotation intense (MO/C, 3 800 tr/min). Les résultats obtenus ont été comparés du point de vue :

- du rendement en volume extrait,
- de la teneur en composés phénoliques totaux des extraits obtenus,
- de la teneur en trois composés phénoliques sélectionnés, et
- de la consommation énergétique du pilote et de l'impact environnemental.

Ces résultats d'extractions ont également été comparés à une méthode de référence : l'extraction par solvant.

Suite à ces pré-tests, un plan d'expériences a été mis en place pour déterminer les valeurs optimales de la densité de puissance micro-ondes et de la vitesse de rotation permettant d'atteindre un rendement d'extraction le plus élevé possible, selon les contraintes d'utilisation de la machine.

Le pilote est présenté en Figure V.1. Les clichés, à gauche de la figure, montrent le panier perforé démonté, inséré dans la machine et en charge. La photo centrale donne une vue globale du pilote sur laquelle apparaissent (1) l'essoreuse, (2) le générateur micro-ondes (3) le guide d'onde et (4) le condenseur en verre permettant de condenser les vapeurs en sortie basse de la machine. Le pilote a été utilisé en configuration fermée (entrées d'air obstruées, chapitre IV). L'extraction est réalisée sans solvant extracteur autre que l'eau « *in situ* » de la matrice végétale et à pression atmosphérique.

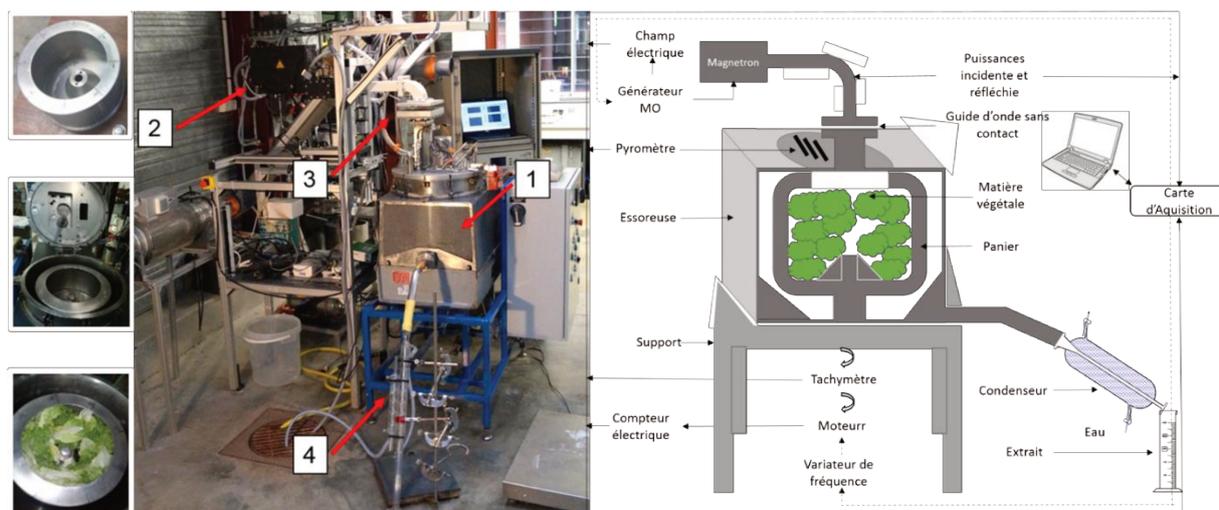


Figure V.1 : Pilote – Photos et Schéma de fonctionnement. 1 : Essoreuse ; 2 : Générateur micro-ondes ; 3 : Guide d'ondes sans contact ; 4 : Condenseur.

La deuxième partie cherche à comparer les résultats obtenus par l'extraction MO/C et par MHG. Cependant, il a été très difficile de tirer des conclusions générales à partir de cette étude. En effet, d'un dispositif micro-ondes à un autre, des différences très significatives peuvent apparaître concernant la distribution du champ électromagnétique, le champ de température dans le produit qui en résulte et l'énergie absorbée par le produit.

Enfin, une troisième partie a porté sur la compréhension des mécanismes mis en jeu et la recherche de voies d'améliorations possibles.

V.2 Pré-tests : comparaison des extractions MO/C et MO/R

Comme indiqué ci-dessus, l'objectif des prétests était double :

1. évaluer la faisabilité d'extraire des composés d'intérêt avec le pilote développé à l'IFTS, et
2. mettre en évidence l'effet de la vitesse de rotation sur l'extraction.

Deux types d'extractions ont été effectués en appliquant une densité de puissance identique de 1,2 W/g pendant 40 minutes avec des vitesses de rotation de 3 800 tr/min (2 583 G) pour l'extraction par MO/C et 400 tr/min (29 G) pour l'extraction par MO/R. Avec un effet G de 29, la compression sur la matrice végétale peut être considérée comme négligeable devant celui appliqué en MO/C. En effet, si un anneau liquide statique de 1 cm d'épaisseur est considéré, la pression maximale qui s'exerce sur la couche interne du liquide est de 0,025 bar au-dessus de la pression atmosphérique alors qu'avec une vitesse de centrifugation de 3 800 tr/min, la charge passe à 2,200 bar au-dessus de la pression atmosphérique. L'effet compressif dans le cas de l'extraction MO/R est donc négligeable. Si l'extraction a lieu, le drainage du liquide, du fait de la vitesse de rotation appliquée, en dehors de la matrice végétale puis vers la sortie du pilote sera plus important pour l'extraction MO/C que pour l'extraction MO/R.

Toutes les extractions présentées dans cette partie ont été réalisées en triplicat.

V.2.1 Volume de liquide extrait

A la fin des extractions, le volume total de liquide est récupéré. Il a été mesuré à 778 ± 13 mL pour l'extraction MO/C et à 615 ± 38 mL pour l'extraction MO/R. La différence entre les deux extractions est significative. La vitesse de 3 800 tr/min permet de récupérer un volume de

liquide plus important qu'avec une faible vitesse de rotation, pour un temps d'extraction fixé à 40 min.

La cinétique d'extraction des volumes de liquide collectés lors des extractions MO/C et MO/R est présentée en Figure V.2. Les 120 premiers millilitres de liquide sont récoltés au bout de 5 minutes avec l'extraction MO/C contre 15 minutes pour l'extraction MO/R, la différence entre ces débits initiaux est significative. La cinétique d'extraction est plus rapide avec une vitesse de rotation élevée. On constate qu'en extraction par MO/C, la production d'extrait approche une valeur maximale avant 40 min (Figure V.2) ce qui n'est pas le cas lors de l'extraction MO/R.

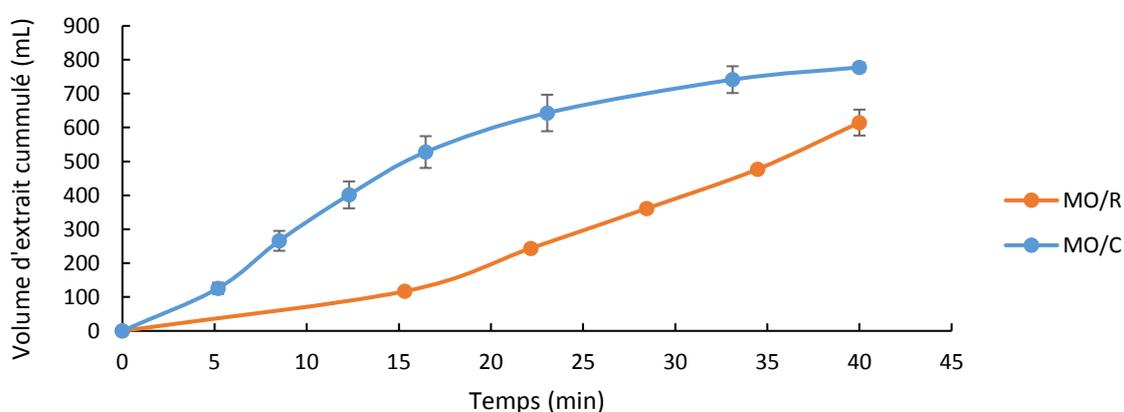


Figure V.2 : Suivi cinétique du volume extrait lors des extractions MO/C (3 800 tr/min) en bleu et MO/R (400 tr/min) en orange; 1,2 W/g, 40 min.

Enfin, la température de surface de la matrice végétale a été mesurée et les données présentées en Figure V.3 représentent la moyenne sur les trois essais de la moyenne des trois pyromètres installés sur le couvercle de la machine (et mesurant la température à trois hauteurs différentes). L'évolution de la température moyenne est similaire pour les deux extractions MO/C et MO/R avec une rapide montée passant de 17°C à 45°C en 10 minutes puis, en fin d'extraction, l'obtention d'un plateau atteignant des valeurs comprises entre 55°C et 60°C. La température de surface de la matrice végétale est donc globalement faible comparée à des extractions assistées par micro-ondes classiques pour lesquelles la température de surface externe du réacteur en verre peut atteindre 100°C (Périno et al., 2016). Cependant, une faible température durant l'extraction peut être avantageuse pour préserver des molécules thermosensibles.

La vitesse de rotation permet donc d'opérer l'extraction à une température plus faible que dans un procédé par micro-ondes seules, en revanche, son intensité ne semble pas jouer un rôle direct sur les températures atteintes, les évolutions obtenues étant similaires pour les deux extractions MO/C et MO/R.

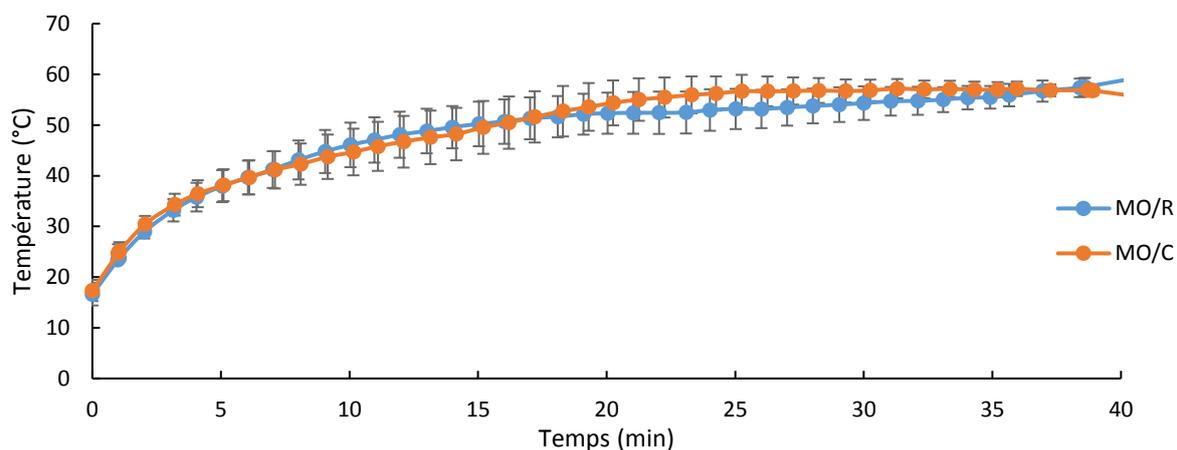


Figure V.3 : Evolution de la température moyenne de surface de la salade lors des extractions MO/C (3 800 tr/min) en bleu et MO/R (400 tr/min) en orange ; 1,2 W/g, 40 min.

Ces premiers résultats montrent que le pilote permet de réaliser une extraction du liquide contenu dans la salade et que l'effet centrifuge semble améliorer la cinétique de l'extraction en termes de volumes récupérés.

V.2.2 Caractérisation en composés phénoliques du liquide collecté

V.2.2.1 Teneur en composés phénoliques totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu

Le dosage des composés phénoliques totaux (TPC) par le réactif de Folin-Ciocalteu a été effectué pour chaque fraction de 100 mL recueillie au cours de chaque type d'extraction : MO/C et MO/R (Figure V.4). Pour les deux types d'extraction, un maximum de TPC est mesuré après 15 minutes d'extraction. Les teneurs en TPC pour l'extraction MO/C sont de 24 ± 6 mg Equivalent Acide CaféoylQuinique/100 g de matrice fraîche (MF) et de $3,8 \pm 0,8$ mg EACQ/100 g de MF par MO/R ; les quantités en TPC sont donc plus rapidement obtenues et plus importantes pour l'extraction MO/C que pour l'extraction MO/R. La vitesse de rotation lors de l'extraction a donc également une influence positive sur l'extraction des TPC.

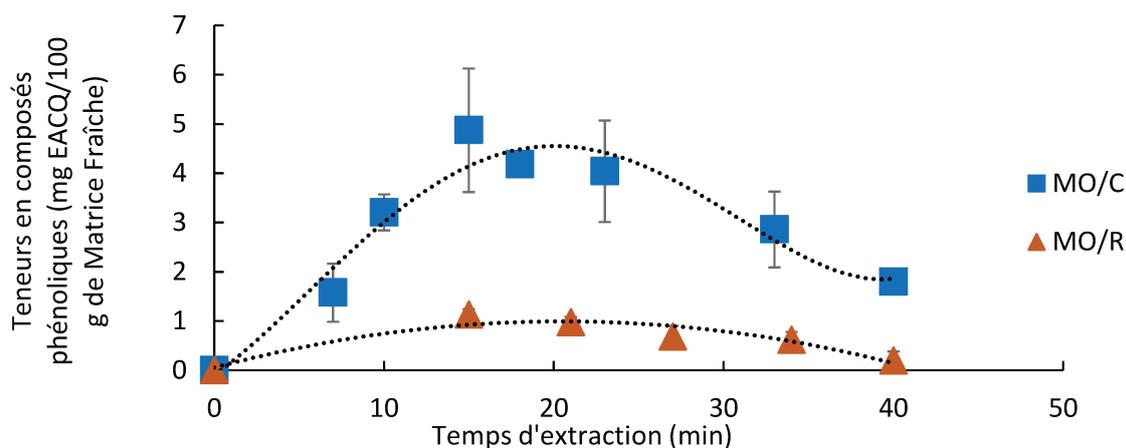


Figure V.4 : Cinétique d'extraction des composés phénoliques totaux pour MO/C (bleu) et MO/R (orange).

La méthode d'extraction de référence de la salade (extraction par solvant) permet d'estimer la quantité « maximale » en composés phénoliques pouvant être extraits de la matière végétale utilisée. Par la méthode de référence, cette teneur est, en moyenne, de 48 ± 9 mg EACQ/100 g de MF soit deux fois supérieure à la quantité extraite par MO/C. Les quantités de TPC contenus dans la salade varient très significativement: entre 18,2 et 259,1 mg/100 g de MF pour des salades vertes en fonction des variétés (Llorach et al., 2008) et des conditions culturales et de stockages (Assefa et al., 2019). Il semblerait donc que la salade utilisée durant cette étude contienne peu de composés phénoliques avec seulement 48 ± 9 mg EACQ/100 g de MF. L'extraction par solvant a également été réalisée sur la salade après extractions MO/C et MO/R pour évaluer la teneur en composés phénoliques restante dans la matrice végétale. Les bilans matières des teneurs en TPC sont cohérents (Figure V.5) : les teneurs évaluées sur la salade avant extraction MO/C ou MO/R sont égales à la somme de celles récoltées dans les extraits liquides et de celles résiduelles dans la salade, récupérées après extraction MO/C ou MO/R. Les composés phénoliques totaux non récupérés sont donc encore présents dans la matrice végétale après extraction et ne semblent pas avoir été altérés par le procédé de chauffage par micro-ondes couplé à la centrifugation.

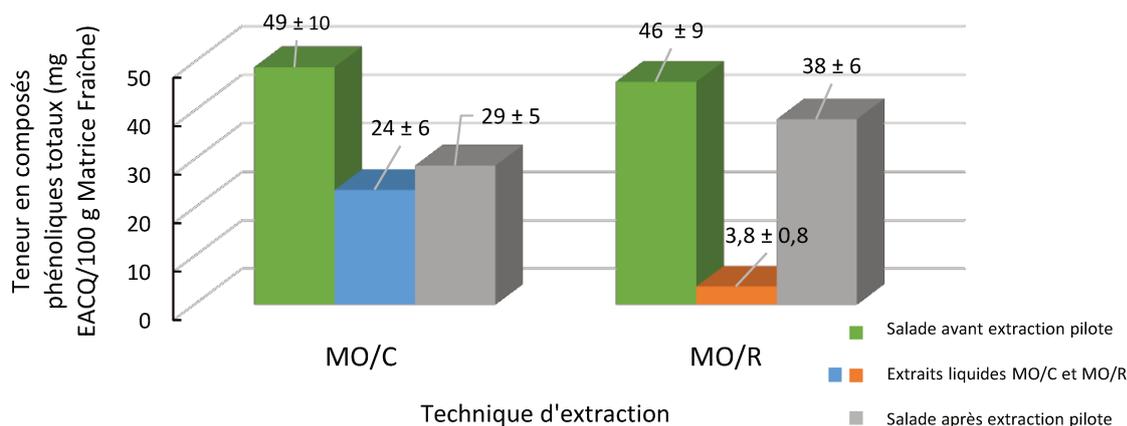


Figure V.5 : Teneurs en composés phénoliques dans la salade avant extraction pilote (vert), dans les extraits liquides par MO/C (bleu) et par MO/R (orange) et dans la salade après extraction pilote (gris) en fonction de la vitesse de rotation appliquée.

Il est important de remarquer que dans les conditions expérimentales utilisées (et qui ne sont pas encore optimisées), les quantités de TPC obtenues sur les deux extractions (MO/R et MO/C) sont nettement plus faibles que celles obtenues par la méthode de référence.

Les quantités de TPC obtenus exprimées en valeurs relatives par rapport à la méthode référence fournissent un rendement d'extraction τ_{DH} permettant de comparer les extractions entre elles en s'affranchissant des variabilités dues à l'utilisation de différents lots de matrices végétales. En effet, pour chaque extraction réalisée un échantillon de la salade utilisée a été traité par la méthode de référence (en triplicat) pour déterminer la teneur en composés phénoliques. Le rendement est alors calculé comme suit :

$$\tau_{DH} = \frac{\text{Quantité dans l'extrait}}{\text{Quantité dans l'extrait de référence}} \times 100.$$

Ainsi, les différentes extractions peuvent être comparées entre elles tout en posant l'hypothèse que le τ_{DH} n'est pas dépendant de la quantité en composés phénoliques présents dans la matrice végétale fraîche : toute la quantité est extractible par la méthode de référence.

L'extraction MO/C permet d'obtenir un rendement de 49 % à comparer avec les 8 % obtenus pour l'extraction MO/R et avec les 3 % obtenus par une méthode MHG (Périno et al., 2016) rapportés à la même méthode de référence sur des lots de salades différents. Ces différences, dues au type d'extraction, peuvent être expliquées par le fait que pendant l'extraction MO/C,

la compression mécanique permet une meilleure diffusion des composés à travers les membranes des cellules dans l'eau « *in situ* » et une meilleure récupération du liquide contenu dans la matrice végétale.

V.2.2.2 Identification des composés phénoliques

L'analyse en chromatographie liquide, UPLC-DAD, permet de séparer les composés phénoliques extraits au cours de l'extraction par MO/C, par MO/R et par la méthode de référence, et de confirmer, grâce aux spectres UV, leur identification par comparaison avec les données de la littérature (Abu-Reidah et al., 2013; Llorach et al., 2008). Les principaux composés phénoliques identifiés dans les extraits de salade obtenus par la méthode de référence sont les acides hydroxycinnamiques détectés à 330 nm (Figure V.6). Les pics correspondant aux différents composés identifiés ci-après sont numérotés sur la Figure V.6 par ordre croissant de leur temps de rétention. Le composé 1, avec un temps de rétention (TR) de 2,8 min, correspond à l'acide monocaféoyltartrique avec deux longueurs d'ondes maximales (λ_{\max}) à 244 et 328 nm. Deux composés quantitativement majoritaires ont été détectés à 330 nm ; ils correspondent à l'acide 3-O-caféoylquinique (composé 2 au TR = 4,2 min, deux λ_{\max} à 245 et 326 nm) et à l'acide dicaféoyltartrique (composé 4 au TR = 8,7 min, deux λ_{\max} à 244 et 329 nm). Le composé 3 au TR = 6,3 min (deux λ_{\max} à 246 et 328 nm) a été identifié comme étant l'acide coumaroyltartrique. Les composés 5 et 6 ont été détectés principalement à 360 nm et ont été identifiés comme étant la quercétine glucuronide (TR = 10,6 min ; deux λ_{\max} à 255 et 346 nm) et la quercétine acétylhexoside (TR = 11 min ; deux λ_{\max} à 255 et 345 nm). Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature.

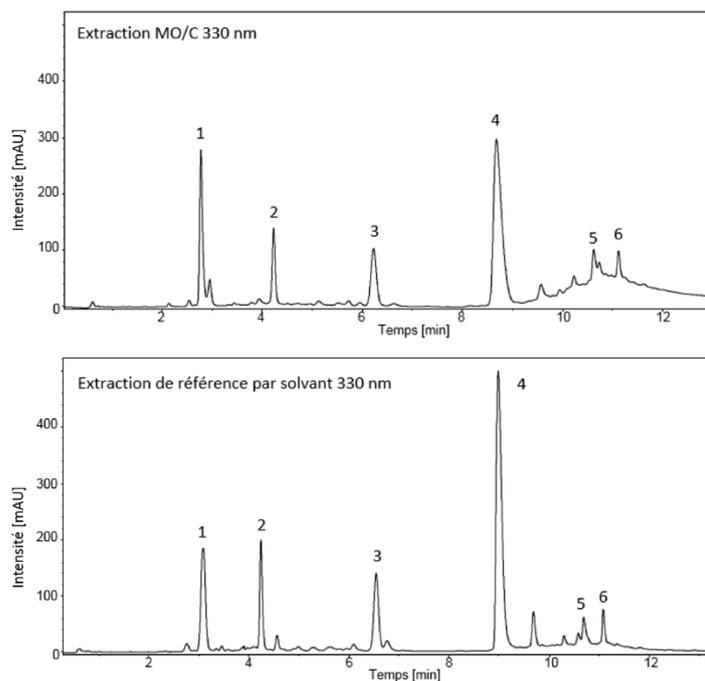


Figure V.6 : Identification des composés phénoliques présents à 330 nm dans un extrait de salade obtenu par extraction MO/C et par la méthode de référence (extraction par solvant).

D'un point de vue qualitatif, le profil chromatographique de l'extrait obtenu par le pilote est similaire à celui obtenu par la méthode de référence à 330 nm. Pour comparer les quantités obtenues selon les techniques d'extraction mises en œuvre, dans les prochains résultats présentés, seuls les trois pics : n°2, n°3 et n°4 correspondant respectivement à l'acide caféoylquinique, l'acide coumaroyltartrique et l'acide dicaféoyltartrique détectés à 330 nm seront considérés (Figure V.7).

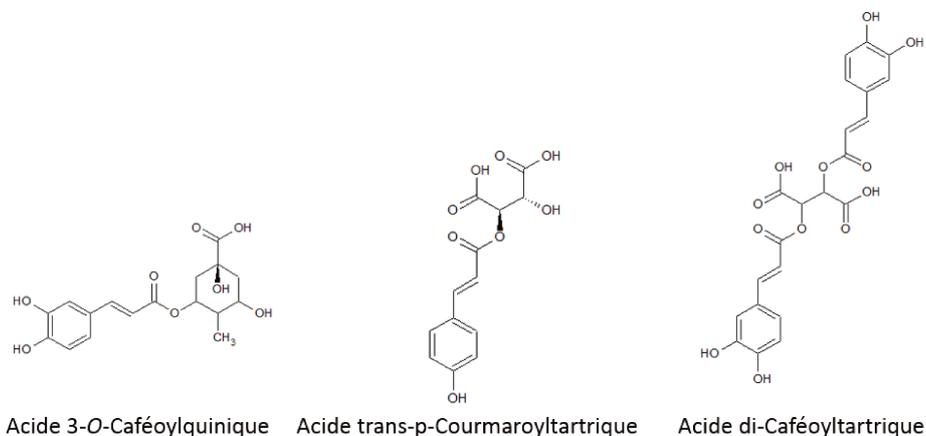


Figure V.7 : Les trois composés phénoliques sélectionnés : l'acide 3-O-Céfaoylquinique, l'acide trans-p-Coumaroyltartrique et l'acide di-Caféoyltratrique.

V.2.2.3 Etude quantitative sur trois composés phénoliques sélectionnés

Les teneurs en composés phénoliques sélectionnés ont été quantifiées par UPLC DAD et sont exprimées en équivalent acide caféoylquinique par gramme de matrice fraîche (EACQ/ μg de MF), puis en valeurs relatives τ_{DH} par rapport aux teneurs obtenues par la méthode de référence. La Figure V.8 montre les valeurs relatives τ_{DH} des trois acides hydroxycinnamiques sélectionnés, extraits par les techniques MO/C et MO/R. Les valeurs relatives obtenues sont significativement plus élevées avec l'extraction MO/C qu'avec l'extraction MO/R avec 10 ± 5 % contre 4 ± 2 % pour l'acide caféoylquinique, 37 ± 12 % contre 10 ± 3 % pour l'acide coumaroyltartrique et 25 ± 13 % contre 7 ± 4 % pour l'acide dicaféoyltartrique.

La somme des teneurs des trois composés phénoliques représente un τ_{DH} de 22 ± 8 % pour l'extraction MO/C alors que pour l'extraction par MO/R le τ_{DH} est de 7 ± 2 %. L'extraction MO/R apparait donc moins efficace que celle par MO/C.

Les valeurs obtenues sont très éloignées de celles des TPC car elles ne prennent en compte que trois composés phénoliques sélectionnés à la longueur d'onde de 330 nm.

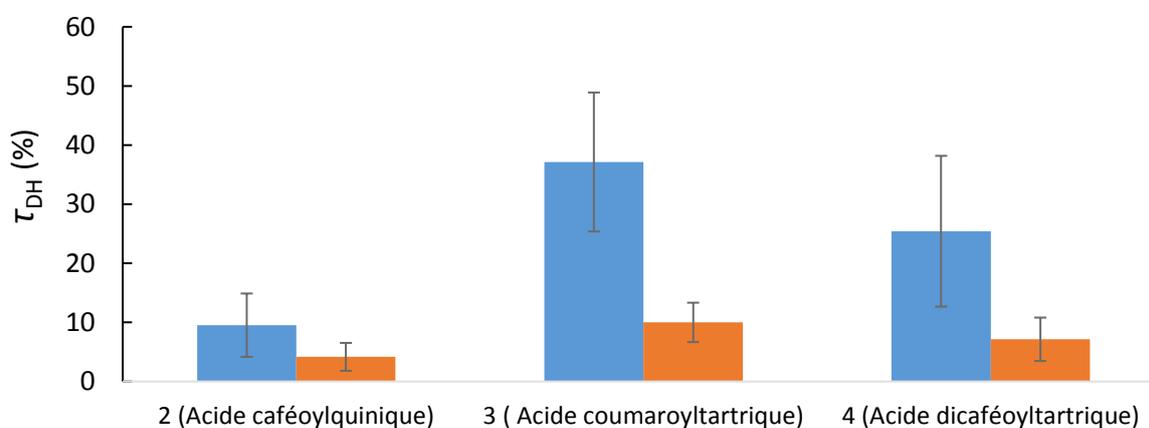


Figure V.8 : Rendement τ_{DH} de trois composés phénoliques majeurs (n°2, n°3 et n°4) pour les extraits en MO/C (bleu) et en MO/R (orange) (n=3).

Pour un même composé et dans les mêmes conditions d'extraction, une grande variabilité sur les rendements d'extraction est observée. Elle peut être expliquée, par exemple, par l'aéroulque du pilote et par la distribution du champ électromagnétique qui n'est pas identique pour chaque extraction.

Concernant l'aéroulque du pilote, s'agissant d'une machine tournante, il existe une circulation d'air en continu pendant l'extraction induite par la rotation du panier. Cette circulation d'air tend, d'une part, à faire baisser la température du produit par refroidissement convectif et, d'autre part, à renouveler le dioxygène lors de l'extraction. La température globalement basse du système (inférieure à 60°C en surface de la matrice végétale) ne permettrait pas l'inactivation des enzymes (peroxydases et polyphénoloxydases (PPO)) libérées au cours de l'extraction (Vamos-Vigyazo, 1995). L'apport de dioxygène, deuxième substrat des PPO, favoriserait l'oxydation des composés phénoliques. En conséquence, on observerait une diminution de la concentration en ces molécules et une variabilité car le niveau d'oxydation serait aléatoire selon les extractions.

Concernant la distribution du champ électromagnétique, il ne peut être rigoureusement identique lors de chaque extraction et cela peut avoir des conséquences sur le rendement de molécules d'intérêt. En effet, il dépend notamment de la distribution et de l'arrangement de la matrice végétale dans le panier de l'essoreuse. Or, il est difficile d'avoir un chargement de la matrice végétale dans le panier strictement identique car lors de l'application de la force centrifuge, la salade s'organise aléatoirement au niveau du panier d'essorage en constituant une couche plus ou moins homogène. Le champ électromagnétique est très sensible à ces différences et peut induire des champs de températures différents en fonction des couches de matrices végétales obtenues. Cela génère donc des différences notables d'une expérience à l'autre.

Néanmoins, malgré la variabilité observée entre les extraits, les ordres de grandeur des quantités concernant les teneurs des trois composés phénoliques considérés sont très différents pour MO/C et pour MO/R. L'effet bénéfique de la vitesse de rotation sur l'extraction de ces composés phénoliques de la salade est donc bien mis en évidence.

V.2.3 Etude de la consommation énergétique

La consommation d'énergie a été mesurée au cours de chaque extraction MO/C et MO/R. Elle se différencie par l'énergie nécessaire à la rotation du panier et qui est fonction de la vitesse de rotation. Le chauffage diélectrique consomme la majeure partie de l'énergie requise par l'extraction (1 260 Wh mesurée pour le générateur micro-ondes pour une extraction de 40

min) ; elle est largement supérieure à la consommation d'énergie nécessaire à la vitesse de rotation qui est de 693 Wh et 113 Wh pour, respectivement, les extractions MO/C et MO/R. Il est important de noter que l'énergie enregistrée correspond à la consommation d'énergie effective (mesurée par les compteurs électriques). L'énergie mécanique est donc nettement inférieure à l'énergie nécessaire pour le chauffage micro-ondes. De plus, si la consommation d'énergie est exprimée par unité de masse de composés phénoliques totaux extraits, l'énergie consommée lors de l'extraction MO/R est environ quatre fois plus élevée (34 325 kWh/kg de TPC extraits) que celle consommée au cours de l'extraction MO/C (8 112 kWh/kg de TPC extraits). L'extraction MO/C est plus avantageuse que l'extraction MO/R d'un point de vue énergétique en termes de rendement en TPC.

V.2.4 Impact environnemental

L'impact des deux extractions MO/C et MO/R sur l'environnement est évalué selon les six principes de l'éco-extraction (Chemat et al., 2012) : l'utilisation de ressources végétales renouvelables (principe 1), la réduction de la consommation de solvants pétrosourcés (principe 2) et de l'énergie (principe 3), une faible production de déchets (principe 4), des temps d'extraction courts (principe 5), et l'obtention d'un extrait naturel et non toxique (principe 6). Ils ont été adaptés aux deux types d'extraction étudiés et calculés comme suit (Jacotet-Navarro et al., 2016; Rapinel et al., 2017) :

- Matière première (Principe 1) : le pourcentage de matière première valorisée de l'industrie alimentaire (en %) correspond au pourcentage de coproduits de salade (valorisation des déchets de salade dans les supermarchés, restaurations, maraîchers).
- Utilisation de solvants (Principe 2) : aucun solvant puisque le solvant extracteur est l'eau « *in situ* ».
- Consommation d'énergie (Principe 3) : les résultats exprimés en kWh/kg de TPC extraits pour les procédés MO/R et MO/C sont traduits en pourcentage ; MO/R est alors exprimé en fonction de MO/C, ce dernier étant équivalent à 100 %.
- Déchets (Principe 4) : masse de déchets de salade après extraction / masse de salade utilisée pour l'extraction (en %)

- Procédé (principe 5) : durée d'extraction en minutes.
- Récupération de l'extrait (principe 6) : masse de l'extrait liquide final récupéré / masse du liquide qu'il est théoriquement possible d'extraire de la matrice végétale.

La Figure V.9 présente l'application des six principes de l'éco-extraction aux extractions MO/C et MO/R.

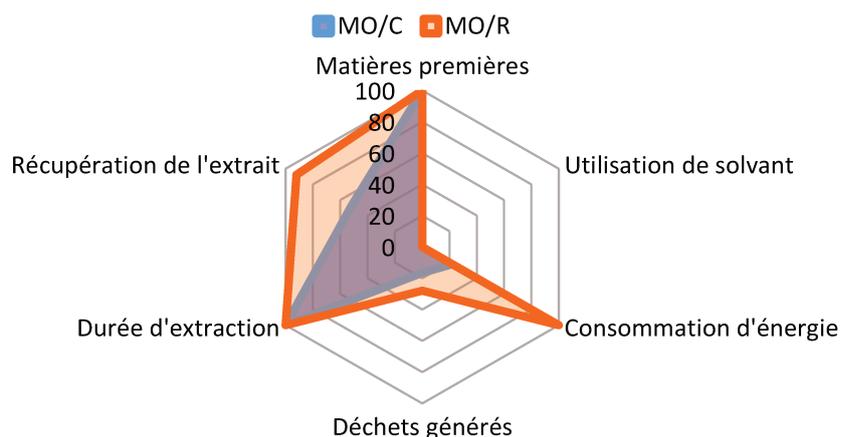


Figure V.9 : Application et étude des six principes de l'éco-extraction pour les procédés à l'extraction MO/C (en bleu) et l'extraction MO/R (en orange).

Il est important de noter que pour chaque principe, une valeur proche du centre est un résultat positif, tandis qu'une valeur éloignée du centre correspond à un résultat négatif. La surface représentant l'application des six principes de l'éco-extraction est plus importante pour MO/R que pour MO/C, cela reflète donc qu'elle a un impact environnemental plus élevée que MO/C. Pour un même temps d'extraction, l'extraction MO/C permet de récupérer un plus grand volume d'extrait que l'extraction MO/R pour la même durée et sans solvant. Elle génère donc légèrement moins de déchets. De plus, sa consommation énergétique en kWh/kg de TPC extraits est bien inférieure à celle du MO/R.

V.2.5 Optimisation des paramètres d'extraction : plan d'expériences

Un plan d'expériences à deux variables (densité de puissance micro-ondes (A) et vitesse de rotation (B)) et à cinq niveaux a été réalisé pour déterminer les paramètres permettant d'optimiser le volume extrait avec le pilote pour l'extraction des composés phénoliques de la salade à partir des résultats d'un nombre minimal d'expériences possibles. Le temps

d'extraction, compte tenu des résultats des pré-tests, est fixé à 40 minutes et la masse de matrice végétale à 1 kg. La réponse choisie est le rendement d'extrait global (REG) défini par la relation suivante :

$$\text{REG} = \frac{\text{somme des volumes de liquide extraits}}{\text{maximum du volume d'eau "in situ" retirable}} \times 100.$$

Dans cette étude, 1 kg de salade avec une teneur en humidité de 94 % permet donc la récupération d'un maximum de 940 mL de l'eau « *in situ* ». Cependant, il est essentiel d'arrêter l'extraction avant que la température de la matrice végétale ne dépasse 100°C en raison du risque de combustion et de la possible dégradation des molécules d'intérêt (Périno et al., 2016). La limite du volume d'extraction est donc fixée à 90 % de l'eau « *in situ* » de la salade soit 846 mL qui représente le maximum du volume d'eau « *in situ* » retirable

Les rendements globaux obtenus pour les différentes extractions du plan d'expériences ainsi que les deux variables A et B indépendantes (décodées et codées) sont présentés dans le Tableau V.1.

Tableau V.1 : Récapitulatif des différentes expériences d'extraction de la salade réalisées sur le pilote avec un temps d'extraction de 40 minutes et une charge de 1 kg de salade et valeurs des rendements globaux obtenus.

Numéro d'identification des expériences	Variables décodées		Variables codées		Rendement d'extrait global (%)
	A : Densité de puissance micro-ondes (W/g)	B : Vitesse de rotation (tr/min)	A	B	
1	0,25	650	- 1	- 1	3 ± 2
2	0,25	3 400	- 1	+ 1	9 ± 2
3	1,00	650	+ 1	- 1	64 ± 2
4	1,00	3 400	+ 1	+ 1	83 ± 2
5	0,63	80	0	- α	13 ± 2
6	0,63	3 970	0	+ α	68 ± 2
7	0,09	2 025	- α	0	0 ± 2
8	1,15	2 025	+ α	0	84 ± 2
9	0,63	2 025	0	0	51 ± 2
10	0,63	2 025	0	0	53 ± 2
11	0,63	2 025	0	0	53 ± 2
12	0,63	2 025	0	0	53 ± 2
13	0,63	2 025	0	0	56 ± 2
14	0,63	2 025	0	0	56 ± 2

En comparant les valeurs du REG pour les expériences pour lesquels un des deux paramètres est constant alors que le second varie, les conclusions suivantes peuvent être tirées :

- Lorsque la densité de puissance micro-ondes est à son niveau inférieur (-1) ou supérieur (+1), le REG augmente avec la vitesse de rotation en passant de 3 ± 2 % (exp n°1, B = 650 tr/min) à 9 ± 2 % (exp n°2, B = 3 400 tr/min) et de 64 ± 2 % (exp n°3, B = 1 000 tr/min) à 83 ± 2 % (exp n°4, B = 3 400 tr/min), respectivement.
- Lorsque la densité de puissance micro-ondes est au niveau zéro, le REG croît avec l'augmentation de la vitesse de rotation (passant de 13 ± 2 % à 68 ± 2 %).
- Lorsque la vitesse de rotation est au niveau zéro, le REG pour « - α » en densité de puissance micro-ondes est très faible (0 ± 2 %) et pour une valeur « + α », le REG atteint la valeur maximale du plan d'expérience 84 ± 2 %.
- Les résultats obtenus pour les expériences relatives aux répétitions au centre montrent une bonne répétabilité de 96 % des extractions réalisées sur le pilote avec une moyenne de 54 ± 2 %.

Le diagramme de Pareto des effets standardisés présenté en Figure V.10 montre les effets significatifs des deux variables A et B (linéaire, quadratique et interactions entre variables). La longueur des barres pour chaque paramètre ou interaction caractérise l'importance des effets estimés. La ligne verticale représente la limite entre les effets significatifs et non significatifs avec un risque d'erreur de 5 %. Quatre effets sont significatifs à un niveau de confiance de 95 % dans le domaine expérimental étudié ($P < 5\%$) : les effets linéaires des deux variables A et B sont les plus significatifs. L'absence d'effets significatifs du terme AB suggère l'absence d'interactions entre les deux variables.

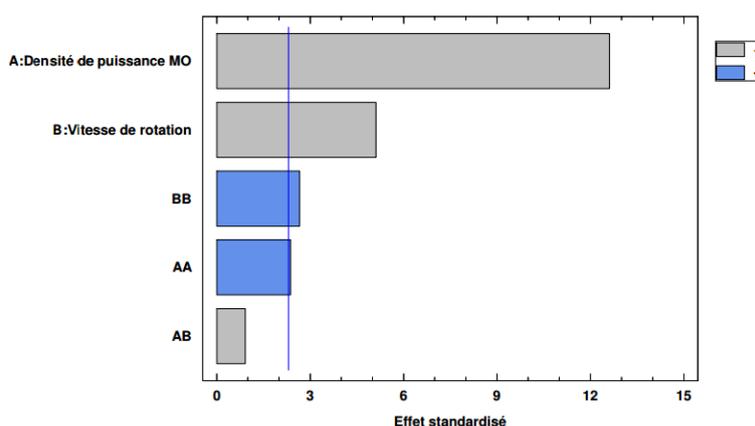


Figure V.10 : Diagramme de Pareto pour le rendement d'extraits globaux.

La Figure V.11a affiche les variations estimées de la réponse REG lorsque chacun des facteurs A et B passe de son niveau bas à son niveau haut, de 0,25 à 1,00 W/g pour la densité de puissance micro-ondes et de 650 à 3 400 tr/min pour la vitesse de rotation. Un effet de saturation est observé pour la force centrifuge (Figures V.11a et V.11b) avec la courbe relative à la vitesse de rotation qui atteint un plateau vers 3 400 tr/min. Les résultats suggèrent qu'une augmentation supplémentaire de la vitesse de rotation (supérieure à 3400 tr/min) n'améliorerait pas de beaucoup le rendement d'extrait global.

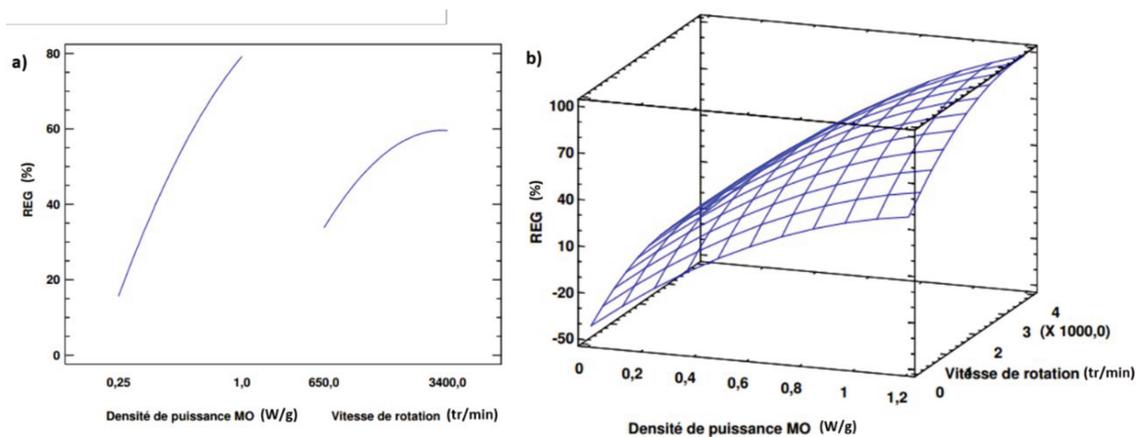


Figure V.11 : a) Graphique des principaux effets et b) Surface de réponse estimée en fonction de la densité de puissance micro-ondes et de la vitesse de rotation.

Les données expérimentales du plan d'expériences traité avec le logiciel Statgraphics® ont permis de déterminer une régression entre la réponse étudiée (rendement d'extrait global) et les variables clés impliquées dans le modèle. Ainsi une régression polynomiale du second ordre est obtenue décrivant l'effet quantitatif des variables définies et leurs interactions sur la réponse mesurée :

$$REG (\%) = 127,02 \times A + 2,03102 \times 10^{-2} \times B - 44,1481 \times A^2 + 6,30303 \times 10^{-3} \times A \times B - 3,68045 \times 10^{-6} \times B^2 - 42,4885$$

où REG (%) correspond au rendement d'extrait global (%), A correspond à la densité de puissance micro-ondes (W/g) et B à la vitesse de rotation (tr/min).

L'analyse de la variance a donné un coefficient de détermination R^2 de 0,96 pour le rendement d'extrait global (REG), le choix du plan d'expériences est donc validé.

Les conditions opératoires optimales pour obtenir un REG le plus élevé possible sont ainsi déduites. Selon le modèle calculé, en prenant en compte les limites techniques du pilote, la valeur la plus élevée du REG devrait être obtenue pour une densité de puissance micro-ondes de 1,15 W/g et une vitesse de rotation de 3 750 tr/min. Ces valeurs sont très proches des pré-tests effectués au début de cette étude. La valeur du REG obtenu lors de ces pré-tests en extraction MO/C (1,2 W/g et 3 800 tr/min pendant 40 min) est donc comparée à la valeur théorique du REG obtenue avec l'équation polynomiale pour les conditions opératoires

optimales (Tableau V.2). Celles-ci sont proches : 92 ± 2 % pour le REG expérimental et 97 ± 2 % pour le REG théorique. En comparaison, pour l'extraction MO/R, le REG est évalué à 73 ± 4 %. La vitesse de rotation joue donc un rôle favorable dans la récupération des volumes d'extrait sur le pilote pour un temps d'extraction fixé à 40 min.

Tableau V.2 : Comparaison des valeurs expérimentale et théorique du REG pour les conditions opératoires optimales déterminées par le plan d'expériences.

Réponse	Conditions opératoires optimisées	
	Expérimentale	Théorique
REG (%)	(1,2 W/g ; 3 800 tr/min) REG = 92 ± 2 %	(1,15 W/g ; 3 750 tr/min) REG = 97 ± 2 %

Il convient également de noter que la teneur en eau de la matrice utilisée à chaque extraction n'est pas strictement identique et peut varier de plus ou moins 2 % en fonction de la saison et de l'état de fraîcheur de la matrice végétale, ce qui induit une variabilité supplémentaire sur la valeur du REG.

L'optimisation des paramètres d'extraction réalisée grâce au plan d'expériences confirme donc les résultats obtenus lors des pré-tests : la vitesse de rotation a une influence positive pour augmenter le rendement d'extraction aussi bien en termes de volumes d'extrait qu'en teneur en composés phénoliques (étude réalisée lors des pré-tests).

V.2.6 Conclusion

Les pré-tests réalisés sur le pilote ont permis de montrer que le couplage chauffage par micro-ondes et centrifugation permettait d'extraire des micronutriments tels que les composés phénoliques à partir d'une matrice végétale riche en eau comme la salade. Le dispositif expérimental s'est révélé opérationnel pour l'extraction avec une adaptation minimale pour extraire des composés non volatils. L'influence positive de la vitesse de rotation, sur un temps d'extraction de 40 minutes, a été établie : le rendement d'extrait en termes de volumes collectés est plus élevé pour l'extraction MO/C (3 800 tr/min) qu'à faible vitesse de rotation, MO/R (400 tr/min) avec une puissance micro-ondes identique de 1,2 W/g, les REG correspondants sont de 92 ± 2 % et 73 ± 4 %, respectivement.

Les paramètres optimaux, obtenus grâce au plan d'expériences à deux variables (densité de puissance micro-ondes et vitesse de rotation) et à cinq niveaux, ont permis de déterminer les conditions optimales d'extraction sur le pilote pour le REG. Les résultats s'approchent des paramètres opératoires appliqués lors de l'extraction MO/C réalisée pendant des pré-tests avec une densité de puissance micro-ondes de 1,2 W/g, une vitesse de rotation de 3 800 tr/min et un temps d'extraction de 40 min. Le REG obtenu est de 92 ± 2 %. Il est donc optimal lorsque la puissance micro-ondes pour 1 kg de salade atteint la valeur maximale possible du pilote (1 200 W). Les paramètres optimaux ont, également, montré leur efficacité pour l'extraction des composés phénoliques avec une teneur en TPC de 24 ± 6 mg EACQ/100 g de MF contre $3,8 \pm 0,8$ mg EACQ/100 g de MF pour la MO/R, atteignant 49 % de l'extraction par solvant pour MO/C contre 8 % pour MO/R.

Par ailleurs, si le temps d'extraction est supérieur à 40 min, il est possible que le REG de MO/R augmente et s'approche du REG de MO/C, néanmoins, les composés phénoliques pourraient être exposés plus longuement à des phénomènes d'oxydation d'origine enzymatique ou non enzymatique (réaction de Maillard), et la qualité d'extrait pourrait donc en être affectée.

Du point de vue de l'application industrielle d'un tel procédé, une vitesse de rotation élevée couplée à un chauffage diélectrique lors de l'extraction MO/C de la salade permet de réduire l'impact sur l'environnement en extrayant des composés phénoliques sans utiliser de solvant ou d'eau additionnelle, et de diminuer de manière significative l'énergie consommée. La vitesse de rotation permet, non seulement, d'homogénéiser le champ électromagnétique au cours de l'extraction, mais aussi, sous l'effet de la force centrifuge, de comprimer la matrice végétale et de drainer le liquide interstitiel pour atteindre des volumes récupérés plus élevés. Le bilan de cette nouvelle technique est donc extrêmement prometteur, d'autant plus que le pilote peut encore être optimisé. Les paramètres mis en jeu seront étudiés pour comprendre l'ensemble des phénomènes qui se déroulent pendant l'extraction MO/C, notamment l'aéraulique du système, la distribution de la température et les échanges convectifs qui peuvent influencer la qualité de l'extrait (oxydations).

V.3 Comparaison d'une extraction assistée par micro-ondes classique type MHG et de l'extraction micro-ondes couplée à la centrifugation MO/C

Dans cette étude, les volumes d'extrait obtenus par extraction MO/C, issus du plan d'expériences présentés précédemment sont comparés à des résultats obtenus par MHG (Microwave Hydrodiffusion Gravity) dans des conditions de traitement micro-ondes aussi similaires que possibles. En MHG, la matrice végétale est placée dans un réacteur en verre lui-même placé dans l'enceinte du four micro-ondes. Le réacteur est raccordé au montage situé à l'extérieur de la cavité du four par le biais d'une colonne en verre suivi d'un système de réfrigération. Les vapeurs condensées sont récupérées par gravité. La comparaison de l'extraction par un chauffage micro-ondes avec et sans centrifugation a nécessité l'utilisation de deux appareils distincts car le pilote ne doit pas fonctionner sans assurer au panier une vitesse de rotation minimale de 1 000 tr/min pour éviter des surchauffes au niveau du moteur de l'essoreuse.

La comparaison de ces deux procédés est critiquable puisque la distribution du champ électromagnétique n'est pas strictement identique dans les deux appareils, mais cela reste une étape importante pour situer les performances en extraction obtenues avec la technique MO/C par rapport à une technique MHG désormais classique. Cela permettra, qui plus est, de faire apparaître des différences sur les niveaux de température atteints et sur les cinétiques de récupération d'extrait.

V.3.1 Etude des profils de températures

V.3.1.1 Extraction MHG

Lors de l'extraction MHG, les mesures des températures sont effectuées sur la paroi du réacteur en verre dans lequel est placée la matrice végétale grâce à un thermomètre infrarouge durant 30 min (Figure V.12). Les extractions MHG sont réalisées dans des conditions opératoires identiques (temps d'extraction, masse de salade de 300 g) mais avec des densités de puissance micro-ondes variant de 0,33 à 1,5 W/g. Le temps d'extraction est fixé à 30 minutes et est décompté lorsque la première goutte d'extrait est collectée. Ce temps d'extraction est la limite avant que la matrice ne brûle lorsque la densité de puissance micro-ondes maximale de 1,5 W/g est appliquée.

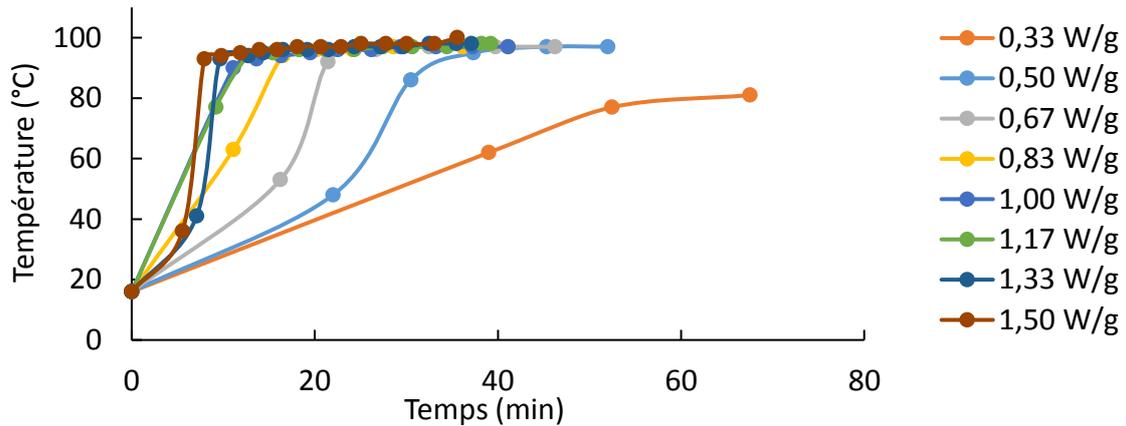


Figure V.12 : Température de paroi du réacteur en verre en fonction du temps d'extraction lors de l'extraction MHG.

Trois phases peuvent être observées. La première phase est une montée en température plus ou moins rapide selon la densité de puissance micro-ondes appliquée. Pendant cette phase, la surface du réacteur atteint une température d'environ 100°C en un temps qui est fonction de la densité de puissance appliquée ; il est de 22 minutes à 0,50 W/g et de 5,5 minutes à 1,50 W/g. Plus la densité de puissance micro-ondes augmente, plus le temps nécessaire pour atteindre la température de 100°C est faible. Cette durée est appelée « temps d'activation ».

La deuxième phase constitue un plateau à 100°C durant lequel l'extraction se déroule avec un débit d'extrait liquide élevé, l'extrait étant recueilli par le bas de l'appareil. Sa durée est fonction de la quantité d'eau « *in situ* » de la matrice végétale utilisée. Cette phase « plateau » s'observe pour une densité de puissance micro-ondes supérieure à 0,5 W/g. En effet pour une densité de puissance micro-ondes trop faible, les pertes thermiques ne permettent pas à la matrice végétale d'atteindre la température d'ébullition.

Après le plateau, et donc après la fin de l'extraction de l'eau « *in situ* », la température augmente très rapidement passant de 100°C à 110°C. Cela correspond au début de la « phase de combustion » de la matrice végétale (cf. puissance 1,50 W/g). L'extraction est stoppée dès l'apparition de ce stade. On observe, qu'avec la densité de puissance minimale appliquée (0,33 W/g), la phase « plateau » est moins marquée et la température de 100°C n'est pas atteinte dans le temps d'extraction fixé à 30 min (comme indiqué ci-dessus les pertes thermiques compensent l'apport de chaleur par micro-ondes à une température inférieure à la température d'ébullition).

V.3.1.2 Extraction MO/C

Les mesures de température de la surface de la matrice végétale dans le pilote sont réalisées à l'aide de trois pyromètres infrarouge visant des points situés à 50 mm, 100 mm et 150 mm du fond du panier contenant la matrice végétale. Les mesures de températures présentées sont une moyenne de ces trois valeurs.

La Figure V.13 montre le suivi cinétique de la température de la surface de la salade en fonction du temps pendant 40 minutes d'extraction par MO/C avec une densité de puissance de 1,15 W/g et une vitesse de rotation de 2 025 tr/min. Une première phase est observée avec une montée en température lente passant de 28°C à 51°C en 10 minutes. Puis, la température évolue peu au cours de l'extraction passant en 30 minutes de 51°C à 61°C, cette dernière étant la température maximale atteinte en fin d'extraction.

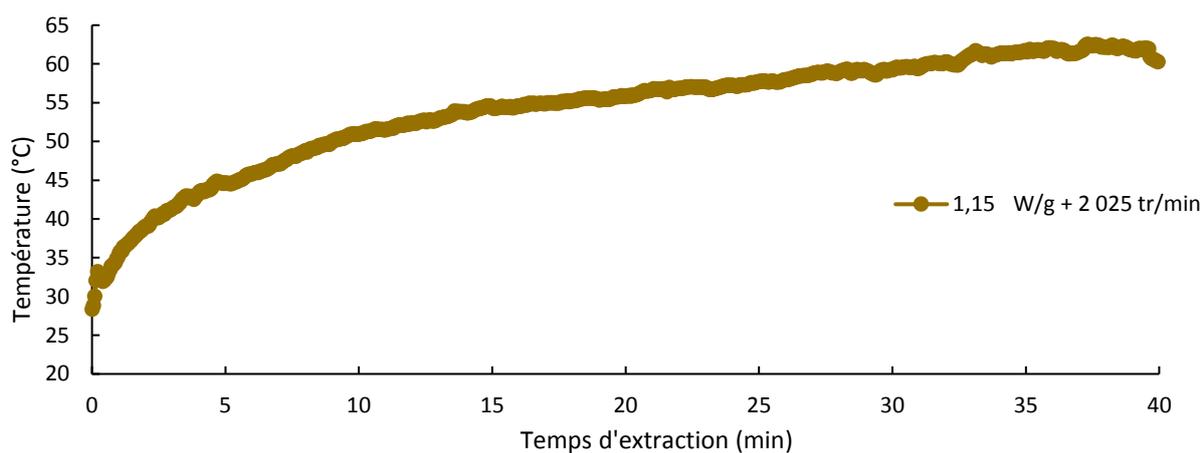


Figure V.13 : Moyenne des températures de la surface de la salade en fonction du temps lors d'une extraction MO/C (1,15 W/g – 2 025 tr/min – 40 minutes).

La température maximale atteinte à la surface du produit dans le pilote, 61°C, est moins élevée que celle enregistrée à la surface externe du réacteur en MHG où les températures atteignent 100°C pour une densité de puissance micro-ondes proche, 1,2 W/g et 1,17 W/g, respectivement. Cela s'explique par la circulation d'air produite par la rotation du panier qui refroidit la surface de la matrice végétale pendant l'extraction.

V.3.2 Rendement obtenu à partir du volume extrait

V.3.2.1 Extraction MHG

La Figure V.14 présente le suivi cinétique des volumes d'extraits obtenus lors d'extractions MHG. Une masse de 300 g de salade étant introduite dans le réacteur, le maximum du volume d'eau « in situ » retirable est donc fixé à 254 mL (90 % de l'eau « in situ » de la salade).

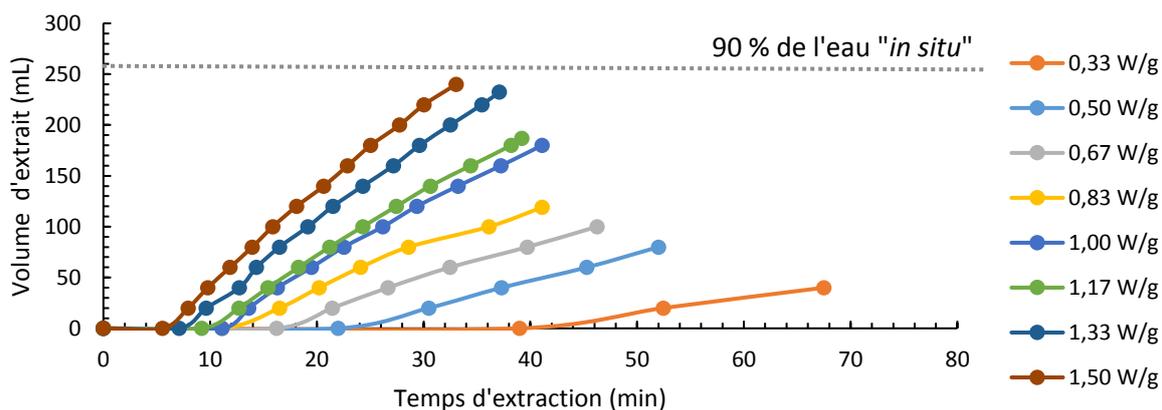


Figure V.14 : Evolution du volume d'extrait récupéré pour différentes densités de puissance micro-ondes appliquées lors d'une extraction MHG. La valeur extractible est représentée par la ligne grise en pointillé.

La première goutte d'extrait est récupérée après une durée qui est d'autant plus longue que la densité de puissance appliquée est faible : 5,5 min pour une densité de puissance de 1,50 W/g et jusqu'à 39 min pour la densité de puissance micro-ondes minimale appliquée (0,33 W/g). Ces temps correspondent aux temps d'activation.

Le volume collecté après 30 min est de 40 mL pour une densité de puissance de 0,33 W/g ; il augmente jusqu'à 240 mL avec la densité de puissance de 1,50 W/g, valeur la plus élevée utilisée dans cette étude. Le volume d'extrait récupéré n'atteint une valeur proche de la valeur théorique (*i.e.* 254 mL) qu'avec une densité de puissance supérieure à 1,33 W/g : le volume récupéré est égal à 240 mL après les 30 min de temps fixé. Pour de faibles densités de puissance micro-ondes, si le temps d'extraction avait été supérieur à 30 min, un volume d'extrait plus important aurait été récupéré mais la matrice végétale aurait été exposée plus longtemps au champ électromagnétique et donc à des températures pouvant dégrader certaines molécules.

De plus, il peut être montré que l'évolution du temps d'activation en fonction de l'inverse de la densité de puissance appliquée à la salade est linéaire (Figure V.15).

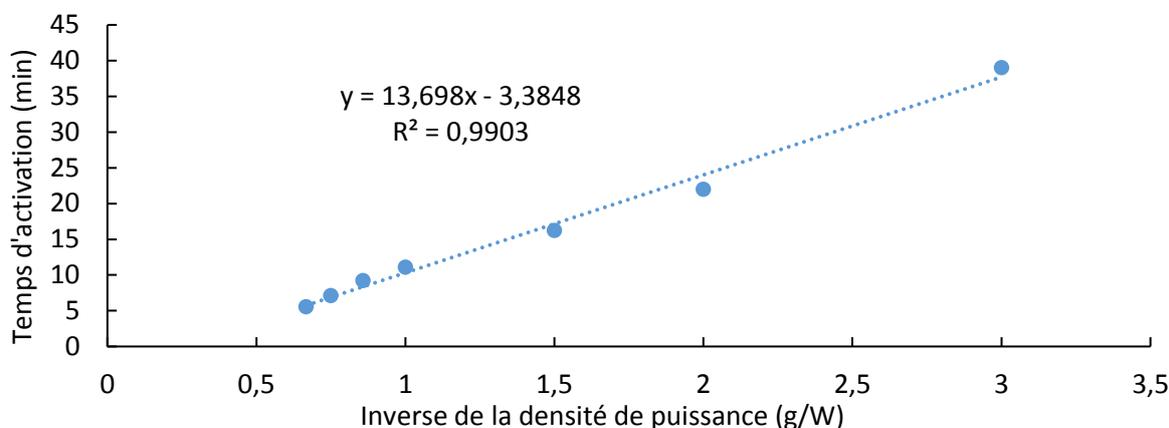


Figure V.15 : Temps d'activation en fonction de l'inverse de la densité de puissance appliquée à la salade.

La valeur de l'ordonnée à l'origine de la droite de régression déterminée à partir des valeurs expérimentales est de -3,3848. Or, une densité de puissance infinie devrait théoriquement donner un temps d'activation nul. Cette valeur de l'ordonnée à l'origine obtenue peut être expliquée par les approximations de mesures de certains paramètres lors de la campagne expérimentale. En revanche, la pente de cette droite devrait être, logiquement, liée aux propriétés thermiques du produit et en particulier à sa capacité thermique massique mais comme les conditions expérimentales ne sont pas maîtrisées, il serait hasardeux de commenter la valeur de cette pente.

Le volume d'extrait produit exprimé en fonction de la température mesurée pour les différentes densités de puissance micro-ondes appliquées est présenté en (Figure V.16). Il est observé que la production d'extrait commence, pour l'ensemble des extractions, lorsque la température de surface du réacteur atteint une valeur proche de 100°C, à l'exception de l'extraction réalisée à 0,33 W/g. Les quelques mL d'extraits produits avant ne sont pas significatifs. À cette température, la salade est déjà probablement à la température d'ébullition et les mécanismes permettant l'extraction par micro-ondes (Chemat, 2011) liés à l'explosion des cellules par surpression interne se déroulent. Si le mécanisme se produit à 100°C, on peut supposer qu'il est lié au changement d'état du liquide contenu dans les cellules végétales. L'augmentation de la température initiale à la température d'ébullition de la

matrice végétale correspond alors au « temps d'activation » du mécanisme d'extraction thermique.

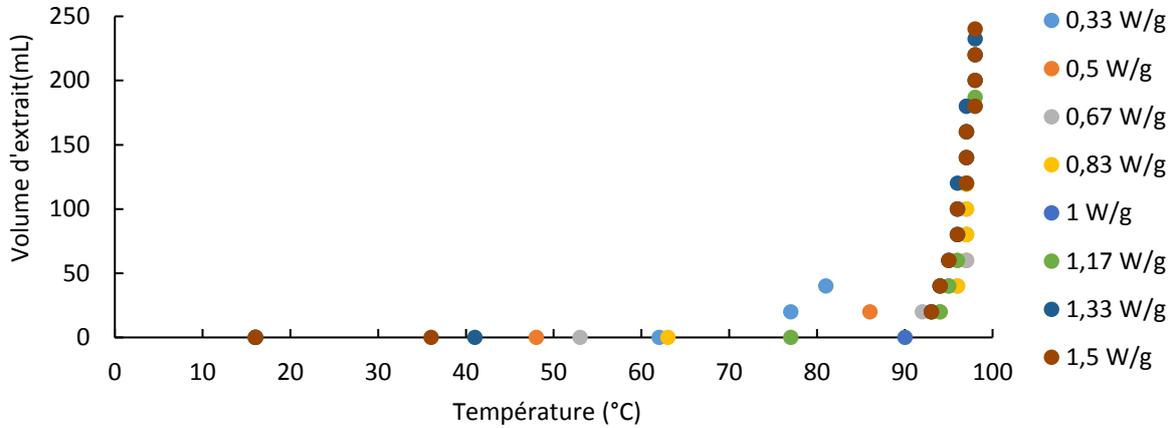


Figure V.16 : Volume d'extrait produit en fonction de la température pour différentes densités de puissance micro-ondes appliquées pour une extraction type MHG.

La relation entre la densité de puissance micro-ondes et la température d'extraction via le temps d'activation est donc confirmée par les Figures V.15 et V.16.

Il est alors intéressant de présenter le volume total d'extrait obtenu en fin d'extraction en fonction de l'énergie qui a été appliquée à la salade pendant les 30 minutes (Figure V.17). Une relation linéaire avec un coefficient de détermination de 0,9829 est obtenue. La même quantité d'énergie appliquée à la salade permet donc d'accéder à un même volume d'extrait total. Ce résultat suggère fortement que le phénomène de vaporisation du liquide intracellulaire de la matrice végétale est la source de la production du volume d'extrait.

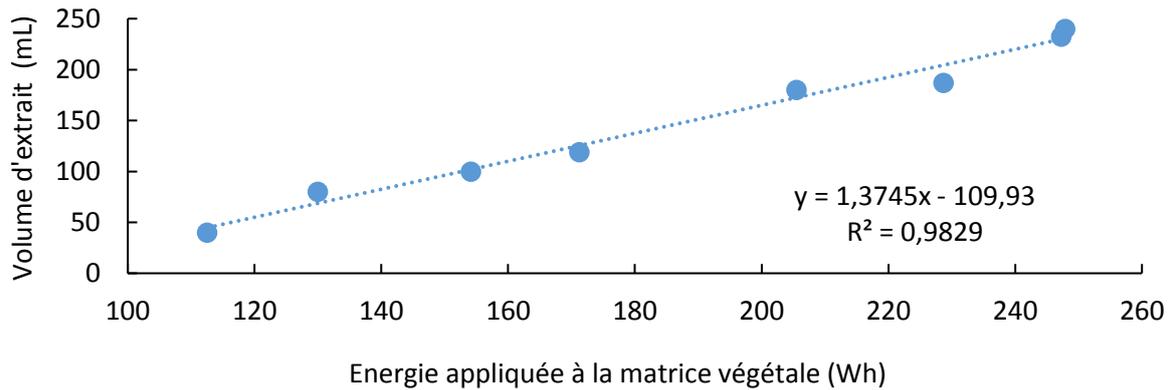


Figure V.17 : Volume d'extrait produit après 30 min en fonction de l'énergie appliquée à la salade.

V.3.2.2 Comparaison des extractions MO/C et MHG

Les données obtenues réalisées lors de l'étude précédente sur le pilote sont utilisées pour être comparées aux données obtenues avec l'extraction MHG. Les résultats précédents, dans le cas de la MHG, ont montré que le volume d'extrait produit en fonction du temps d'extraction dépend de la densité de puissance micro-ondes appliquée (Figure V.17). La densité de puissance micro-ondes apparaît donc comme étant le facteur limitant.

Pour comparer les deux extractions MO/C et MHG, le volume d'extrait produit par unité de masse de matrice végétale fraîche (noté V_m en mL/g de MF) est exprimé en fonction de la vitesse de rotation à une densité d'énergie fixe de 0,42 Wh/g (Figure V.18). Les cercles correspondent aux données obtenues avec l'extraction MO/C. Ils sont coloriés en fonction de la vitesse de rotation de l'extraction : les cercles plus sombres correspondent à des vitesses de rotation plus élevées et inversement. Le volume obtenu par la technique MHG est représenté par la ligne noire en pointillé.

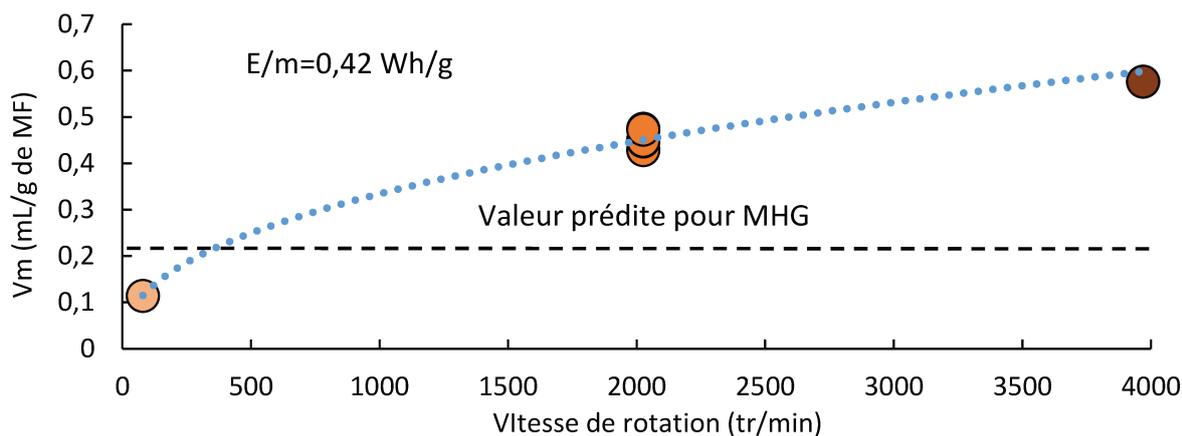


Figure V.18 : Comparaison des volumes d'extrait produits par unité de masse de matrice fraîche en fonction de la vitesse de rotation à une densité d'énergie de 0,42 Wh/g lors des extractions MO/C et MHG.

Lorsque la vitesse de rotation en MO/C est supérieure à 400 tr/min, le volume par unité de masse de matière fraîche produit (V_m) en MO/C est supérieur au V_m de 0,23 mL/g obtenu pour l'extraction MHG. Plus la vitesse de rotation augmente, plus le V_m croît jusqu'à 0,6 mL/g pour 4 000 tr/min. Ces données permettent de confirmer que l'application d'un effet centrifuge lors d'une extraction assistée par micro-ondes intensifie le volume collecté d'un extrait liquide.

Il est également possible de tracer le V_m en fonction de la densité d'énergie appliquée, quelle que soit la vitesse de rotation utilisée (Figure V.19). Comme pour la Figure V.18, les cercles correspondent aux données obtenues avec l'extraction MO/C. L'intensité de couleur est fonction de la vitesse de rotation : les cercles plus sombres correspondent à des vitesses de rotation plus élevées et inversement.

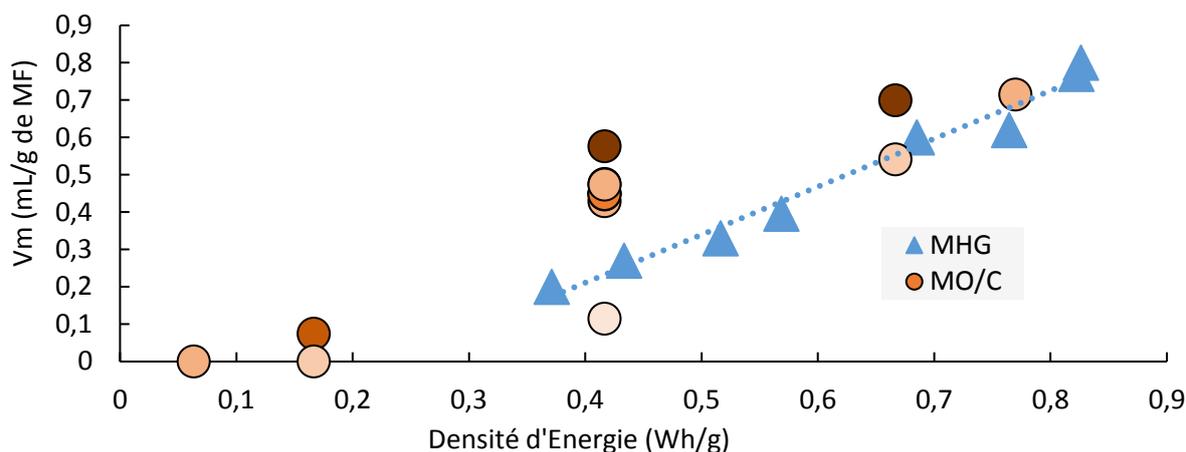


Figure V.19 : Influence de la vitesse de rotation sur le volume récupéré par unité de masse de matrice fraîche (MF) en fonction de la densité d'énergie, lors des extractions MO/C et MHG.

A une densité d'énergie de 0,7 Wh/g, le V_m pour MHG est de 0,6 mL/g de MF comparé à 0,54 mL/g de MF et 0,7 mL/g de MF obtenus respectivement par MO/C à 650 tr/min et à 3 400 tr/min. Le V_m récupéré augmente donc avec la vitesse de rotation pour une même densité d'énergie. A une densité d'énergie de 0,42 Wh/g, l'effet mécanique intensifie, également, la quantité d'extrait récupéré avec un V_m de 0,45 mL/g de MF et 0,58 mL/g de MF respectivement à 2 025 tr/min et 3 970 tr/min par rapport à la MHG qui a produit 0,23 mL/g de MF. Cependant, pour cette même densité de puissance, la valeur obtenue avec la MHG est plus forte que sur le pilote (V_m de 0,11 mL/g de MF) quand une faible vitesse de rotation est appliquée (80 tr/min). Cela peut signifier que la puissance micro-ondes réellement transférée à la salade dans le pilote, sous forme de chaleur, est plus faible que dans le dispositif MHG. Dans le pilote, la matrice végétale est placée dans un panier métallique qui a pour effet d'atténuer le champ électrique à son voisinage.

L'écart entre les V_m des deux extractions MO/C et MHG semble diminuer lorsque la densité de puissance augmente. A faible densité de puissance micro-ondes, l'application d'une vitesse de rotation élevée permet d'obtenir dans le pilote des volumes d'extraits équivalents à ceux obtenus lors de l'extraction MHG à plus forte densité de puissance micro-ondes. Cela est intéressant d'un point de vue énergétique, car les micro-ondes sont plus énergivores que la mise en rotation du panier ; l'énergie consommée par MO/C serait alors plus faible comparée à MHG pour un même V_m collecté et pour un temps d'extraction de 30 minutes.

Les Figures V.18 et V.19 permettent de positionner le pilote par rapport à une extraction MHG. En comparant les deux extractions en termes de volumes d'extraits, l'intérêt d'un effet centrifuge est démontré. D'autres comparaisons peuvent également être réalisées au niveau de la couleur des extraits et du résidu solide obtenus après extraction. Il serait aussi intéressant de confirmer l'influence de la vitesse de rotation sur les quantités de composés phénoliques présentes dans les extraits liquides récoltés.

V.3.3 Couleur des extraits collectés

La couleur des liquides collectés pendant les extractions MO/C et MHG sont différentes. Les extraits obtenus par MHG sont incolores (Figure V.20a) alors que ceux obtenus sur le pilote varient du brun à l'incolore au cours de l'extraction (Figure V.20b). L'intensité de la coloration décroît au cours de l'extraction MO/C. Elle peut donc être liée à des niveaux de températures atteints, car la température en début d'extraction MO/C est plus faible que celle en fin d'extraction.

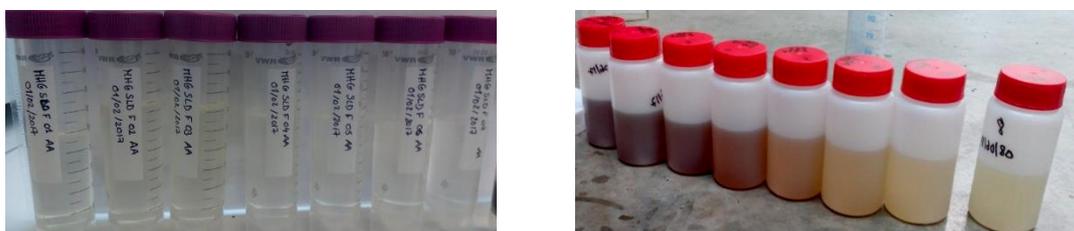


Figure V.20 : a) Fractions des extraits collectés par MHG ; b) Fractions des extraits collectés par MO/C (de coloré à l'incolore).

Ces différences observées peuvent provenir des conditions d'extractions qui ne sont pas similaires suivant les deux techniques. L'extraction MHG s'effectue dans un réacteur en verre fermé placé dans l'enceinte micro-ondes qui est directement relié au condenseur situé à l'extérieur du four ; ce qui limite le contact de la matrice végétale avec le dioxygène. En revanche, l'extraction MO/C est réalisée dans un panier en acier avec un renouvellement d'air en continu, le pilote n'étant pas étanche aux gaz. La circulation d'air, due à la rotation du panier entraîne la présence en continu de dioxygène au contact de la matrice végétale.

La coloration des extraits de l'extraction MO/C pourrait correspondre à un brunissement d'origine enzymatique ou non enzymatique, type réaction de Maillard. La température au sein du pilote MO/C serait trop faible pour inhiber les enzymes comme les polyphénols oxydases (Gouzi, 2015; Vamos-Vigyazo, 1995), ce qui pourrait conduire à l'oxydation des composés phénoliques extraits. De plus, le pH au cours de l'extraction MO/C est proche de 7 ce qui pourrait également favoriser l'auto-oxydation des acides hydroxycinnamiques présents. Une étude qualitative des composés phénoliques réalisée par chromatographie liquide à une longueur d'onde de 330 nm montre que la MHG et la MO/C présentent les mêmes molécules d'intérêt dans leurs extraits respectifs. Pour autant, l'étude quantitative présente une grande variabilité sur les teneurs et il est difficile de tirer une conclusion fiable sur l'influence de la vitesse de rotation en raison des phénomènes d'oxydations non maîtrisés.

Les extraits obtenus par la méthode de référence sont de couleur verte en raison de la présence de chlorophylles extraites par l'éthanol, l'extraction par micro-ondes en l'absence de solvant organique ne permet visiblement pas de les extraire. De plus, l'ajout de métabisulfite de sodium dans le solvant d'extraction a permis de protéger les composés phénoliques de l'oxydation.

V.3.4 Analyse volumétrique avant et après extraction

Pour apprécier la diminution de volume occupé par la matrice végétale après extraction par micro-ondes, le volume moyen d'une salade, contenue dans le réacteur ou le panier, avant et après extraction a été évalué (Figure V.21). Le volume du réacteur contenant une salade était d'environ 4 L. Le volume de biomasse obtenu après épuisement de l'eau «*in situ*» a été considérablement réduit par rapport au volume d'une salade fraîche, il a été évalué à environ 20 % du volume initial. Il en est de même pour l'extraction par MO/C (Figure V.22).



Figure V.21 : Analyse volumétrique lors de l'extraction MHG : a) salade avant extraction ; b) salade après extraction.



Figure V.22 : Analyse volumétrique lors de l'extraction MO/C : a) salade avant extraction ; b) salade après extraction.

Cette diminution de volume, peut être un réel avantage en termes de récupération et mise en valeur des sous-produits. Exempt de traces de solvant après extraction sur le pilote, le résidu solide peut ensuite être stocké plus facilement avant d'être envoyé en compostage ou à destination d'autres voies de valorisation.

V.3.5 Conclusion

Pour une même densité de puissance micro-ondes appliquée, l'extraction MO/C permet de récupérer un volume d'extrait plus élevé qu'avec la MHG lorsque la vitesse de rotation appliquée est supérieure à 400 tr/min (*i.e.* 29 G). L'application de la force centrifuge n'entraîne pas une consommation d'énergie significativement plus importante ramenée au gain apporté en termes de volume d'extraits. Elle permet également d'appliquer des densités de puissances micro-ondes plus élevées sans brûler la matrice et donc de favoriser l'extraction de micro-constituants. En raison de la rotation du panier, le champ électromagnétique, absorbé par la matrice végétale, est homogénéisé et les points chauds sont évités contrairement à la MHG.

Néanmoins, la surface du produit en contact avec le dioxygène est plus importante en MO/C qu'en MHG et la température globale d'extraction est plus basse (61°C contre 100°C). Les extraits obtenus sont plus sensibles à l'oxydation et sont de couleur brune alors qu'ils sont incolores lors de l'extraction par MHG. La coloration des extraits pourrait être utilisée comme un indicateur de la qualité des extraits puisque le brunissement observé en MO/C peut être synonyme d'une possible altération des composés phénoliques.

Pour déterminer l'origine des phénomènes d'oxydation, des prétraitements avant l'extraction MO/C favorisant une montée en température plus rapide de la matrice végétale et supérieure à 90°C ou agissant sur le pH du liquide contenu par la salade pourraient être mis en place (Hisaminato et al., 2001; Pizzocaro et al., 1993).

V.4 Proposition de mécanisme d'extraction MO/C

Les mécanismes induits par les micro-ondes sur une cellule végétale ont déjà fait l'objet de plusieurs études (Chemat, 2011), en revanche, la superposition d'un effet centrifuge élevé à une extraction assistée par micro-ondes est un nouveau procédé d'extraction. Une hypothèse sur le mécanisme se déroulant au niveau de la cellule végétale est présentée en Figure V.23. Les étapes du comportement d'une cellule végétale soumise à une extraction MO/C avec l'explosion cellulaire et son tassement liés aux paramètres physiques appliqués sont proposées.

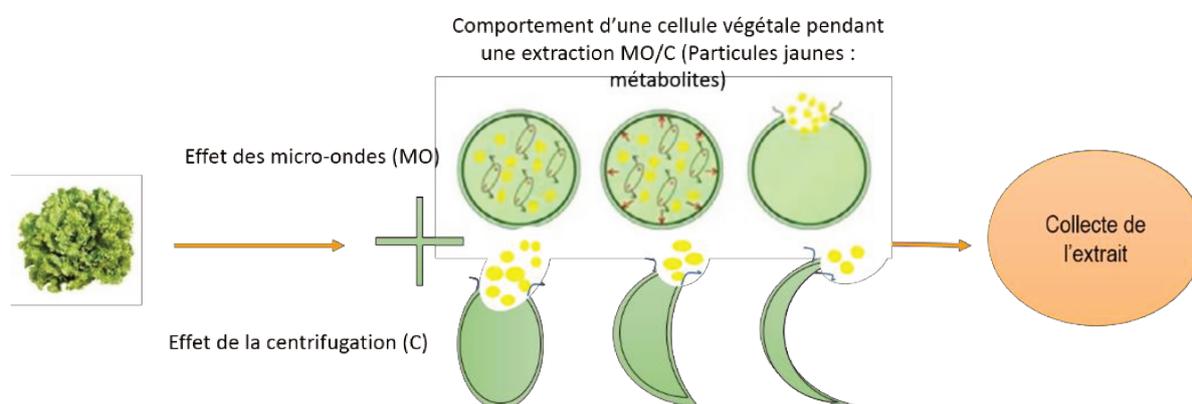


Figure V.23 : Représentation schématique de l'évolution d'une cellule végétale lors d'une extraction MO/C.

Lors de l'application d'un champ électromagnétique, les molécules d'eau contenues dans la cellule végétale s'alignent en fonction du temps sur le champ électrique oscillant. A une fréquence proche de la fréquence de relaxation de l'eau, l'oscillation des molécules devient désordonnée. Dans ces conditions, la friction interne des molécules et les chocs moléculaires créent de la chaleur. Cette énergie dégagée au sein de la cellule végétale, génère une élévation de température qui, sous l'effet de la dilatation du liquide et du changement d'état, crée une montée en pression et donc l'explosion de la cellule sous l'effet des contraintes mécaniques qui en résultent. En appliquant simultanément une force centrifuge, il en résulte une compression des cellules déstructurées par les micro-ondes. Potentiellement, la rupture des cellules peut intervenir à une température plus faible sous effet centrifuge. L'eau « *in situ* » chargée en molécules d'intérêt présente dans la cellule est expulsée de la cellule entraînée, sous l'effet de la compression, hors du tissu végétal pour être drainée vers la paroi du panier. L'extraction du liquide est améliorée et cela permet l'obtention d'un meilleur rendement sur des temps plus courts.

De plus, dans une cavité multimode, l'hétérogénéité du champ électrique donne lieu à un champ de température inhomogène. La vitesse de rotation permet de limiter les phénomènes de points chauds, la matrice végétale balayant le volume de la cavité sous l'effet de la rotation. Elle impose également une circulation d'air lors de l'extraction et donc un gradient de température selon le rayon du panier avec une température de surface du produit faible de l'ordre de 60°C. Ce phénomène est susceptible de favoriser la protection des molécules thermosensibles.

V.5 Conclusion générale et perspectives

Le pilote, initialement conçu pour le séchage de suspensions minérales et de produits textiles, a été adapté et modifié pour extraire certains composés phénoliques de la salade, sans ajout de solvant ni d'eau. Le travail réalisé a permis de montrer que l'extraction de micronutriments par micro-ondes combinée à la centrifugation est possible. Elle offre des avantages nets en termes de rendement et de sélectivité, avec un meilleur temps d'extraction, une teneur en composés phénoliques élevée tout en étant plus respectueuse de l'environnement qu'une simple méthode d'extraction par micro-ondes. En effet, les extractions à haute vitesse de

rotation 3 800 tr/min (, *i.e.* 2 583 G) permettent de récupérer un plus grand volume d'extrait qu'à faible vitesse de rotation (400 tr/min, *i.e.* 29 G). Les volumes d'extrait collectés sont de 778 ± 13 mL et de 615 ± 38 mL, respectivement. D'un point de vue quantitatif, le pilote permet d'extraire plus de 49 % des TPC par rapport à une extraction de référence ce qui est élevé si l'on se réfère aux travaux de (Périno et al., 2016) pour lesquels le rendement obtenu est de 3 % pour une extraction par MHG et de 6 % pour le MAC-75, pilote MHG à l'échelle industrielle pour lequel la matrice est placée dans un cylindre rotatif pour permettre de limiter les points chauds. Par une optimisation plus poussée du pilote, les rendements pourraient être probablement encore améliorés.

L'extraction MO/C permet un gain énergétique car l'effet centrifuge offre la possibilité d'utiliser en combinaison une densité de puissance micro-ondes plus basse que celle normalement utilisée pour une technique micro-ondes seule. Les micro-ondes étant nettement plus énergivores que la mise en rotation du panier, la consommation énergétique est au bilan réduite. Elle permet également d'appliquer des puissances élevées sans brûler la matrice grâce à l'homogénéisation du champ électromagnétique et donc de limiter la présence de points chauds au cours de l'extraction ce qui n'est pas le cas lors d'extractions par micro-ondes classiques.

Cependant, la couleur brune des extraits soulève des interrogations quant à leur qualité. Des expériences complémentaires ont révélées qu'une oxydation enzymatique pouvait expliquer cette couleur brune. Cette oxydation se produirait plus aisément dans le pilote en raison de :

- la montée en température qui ne dépasse pas 60°C et qui est lente, plus de 10 minutes pour passer de 25°C à 50°C,
- la présence de dioxygène qui facilite les réactions d'oxydation, et
- le pH de l'extrait qui s'établit à 7 et qui n'est donc pas assez acide pour protéger les composés phénoliques d'une auto-oxydation.

Le brunissement enzymatique pourrait être prévenu en élevant rapidement la température de la matrice végétale à plus de 90°C et en maintenant le pH de la matrice ainsi que des extraits obtenus inférieur à 4 (Gouzi, 2015; Hisaminato et al., 2001).

Néanmoins, l'extraction assistée par micro-ondes et force centrifuge a permis d'extraire des molécules non volatiles (composés phénoliques) avec un rendement d'extraction de 49 %, qui est élevé pour une technique sans solvant.

V.6 Références

- Abu-Reidah, I.M., Contreras, M.M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., 2013. Reversed-phase ultra-high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry as a powerful tool for metabolic profiling of vegetables: *Lactuca sativa* as an example of its application. *J. Chromatogr. A* 1313, 212–227.
- Altunkaya, A., Becker, E.M., Gökmen, V., Skibsted, L.H., 2009. Antioxidant activity of lettuce extract (*Lactuca sativa*) and synergism with added phenolic antioxidants. *Food Chem.* 115, 163–168.
- Apalaza, X., 2014. Déshydratation assistée thermiquement couplant essorage et micro-ondes. Université de Bordeaux 1.
- Assefa, A.D., Choi, S., Lee, J.-E., Sung, J.-S., Hur, O.-S., Ro, N.-Y., Lee, H.-S., Jang, S.-W., Rhee, J.-H., 2019. Identification and quantification of selected metabolites in differently pigmented leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivars harvested at mature and bolting stages. *BMC Chem.* 13, 56.
- Chemat, F., 2011. Eco-extraction du végétal. Procédés Innovants Solvants Altern. Tech. Ingénierie Ed Dunod.
- Chemat, F., Vian, M.A., Cravotto, G., 2012. Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. *Int. J. Mol. Sci.* 13, 8615–8627.
- DuPont, M.S., Mondin, Z., Williamson, G., Price, K.R., 2000. Effect of Variety, Processing, and Storage on the Flavonoid Glycoside Content and Composition of Lettuce and Endive. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3957–3964.
- Gouzi, H., 2015. Extraction et caractérisation biochimique des polyphénol oxydases de champignons et leur application en biocatalyse supportée. Université Pierre et Marie Curie.
- Hisaminato, H., Murata, M., Homma, S., 2001. Relationship between the enzymatic browning and phenylalanine ammonia-lyase activity of cut lettuce, and the prevention of browning by inhibitors of polyphenol biosynthesis. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 65, 1016–1021.
- Jacotet-Navarro, M., Rombaut, N., Deslis, S., Fabiano-Tixier, A.-S., Pierre, F.-X., Bily, A., Chemat, F., 2016. Towards a “dry” bio-refinery without solvents or added water using

- microwaves and ultrasound for total valorization of fruit and vegetable by-products. *Green Chem.* 18, 3106–3115.
- Llorach, R., Martínez-Sánchez, A., Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I., Ferreres, F., 2008. Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. *Food Chem.* 108, 1028–1038.
- Llorach, R., Tomás-Barberán, F.A., Ferreres, F., 2004. Lettuce and chicory byproducts as a source of antioxidant phenolic extracts. *J. Agric. Food Chem.* 52, 5109–5116.
- Mulabagal, V., Ngouajio, M., Nair, A., Zhang, Y., Gottumukkala, A.L., Nair, M.G., 2010. In vitro evaluation of red and green lettuce (*Lactuca sativa*) for functional food properties. *Food Chem.* 118, 300–306.
- Périno, S., Pierson, J.T., Ruiz, K., Cravotto, G., Chemat, F., 2016. Laboratory to pilot scale: Microwave extraction for polyphenols lettuce. *Food Chem.* 204, 108–114.
- Pizzocaro, F., Torreggiani, D., Gilardi, G., 1993. Inhibition of apple polyphenoloxidase (PPO) by ascorbic acid, citric acid and sodium chloride. *J. Food Process. Preserv.* 17, 21–30.
- Rapinel, V., Breil, C., Makerri, C., Jacotet-Navarro, M., Rakotomanomana, N., Vallageas, A., Chemat, F., 2017. Feasibility of using liquefied gas HFO-1234ze (trans-1,3,3,3-tetrafluoroprop-1-ene) as an alternative to conventional solvents for solid–liquid extraction of food ingredients and natural products. *LWT - Food Sci. Technol.* 83, 225–234.
- Vamos-Vigyazo, L., 1995. Prevention of enzymatic browning in fruits and vegetables: a review of principles and practice.

Chapitre VI. Extraction des huiles essentielles des
écorces d'oranges

VI.1 Introduction

Dans le cadre de ce projet et dans l'optique de la valorisation de coproduits, l'extraction à partir d'écorces d'oranges (*Citrus sinensis* L.) a été étudiée. En effet, l'écorce d'orange est une source importante d'huiles essentielles qui sont des composés volatils et sont très utilisées dans le domaine de l'aromathérapie. Les huiles essentielles d'écorces d'agrumes sont traditionnellement extraites par pression à froid (Parker et al., 2003). Utilisée uniquement pour les agrumes, cette méthode est réalisée sans chauffage : elle consiste à soumettre le fruit à une pression élevée grâce à une presse hydraulique. Les huiles essentielles contenues dans les petites glandes de l'écorce sont ensuite séparées du jus par un système mécanique. La distillation est également utilisée dans certains pays comme un moyen plus économique de récupérer les huiles essentielles avec un meilleur rendement que le pressage à froid. Toutefois, ce procédé implique des températures élevées qui peuvent dégrader certains composés (Ferhat et al., 2007). Il est donc intéressant de tester une nouvelle technique d'extraction pour augmenter le rendement en huiles essentielles tout en conservant les composés thermosensibles.

Une première partie de ce travail a porté sur la possibilité d'extraire des huiles essentielles à partir d'écorces d'oranges en utilisant la combinaison micro-ondes et centrifugation. La problématique est différente de celle abordée lors de l'extraction des composés phénoliques à partir de la salade. En effet, les composés phénoliques sont des molécules non-volatiles et leur récupération est donc très peu perturbée par l'aéroulque dans la machine. A l'inverse, les huiles essentielles sont composées de molécules dont la plupart sont volatiles. Le pilote n'est pas complètement étanche à l'air et la rotation du panier entraînant une circulation d'air à l'intérieur du système peut rendre complexe cette extraction.

Les premières études ont porté sur le potentiel du pilote à extraire les huiles essentielles avec des paramètres opératoires choisis à partir de données issues de la littérature. Le pilote, dans la configuration utilisée pour extraire les huiles essentielles, est présenté en Figure VI.1. Un dispositif d'injection de la vapeur d'eau a également été installé sur le pilote par l'intermédiaire d'une buse d'injection positionnée verticalement en regard de la paroi du panier, permettant de projeter la vapeur directement sur la matrice végétale. Les générateurs de vapeur d'eau utilisés sont présentés dans le chapitre IV.5.3.3.. Le condenseur utilisé est en

acier car il présente une surface d'échange plus importante que celle du condenseur en verre utilisé dans l'étude précédemment. Cette surface est nécessaire pour pouvoir condenser les molécules volatiles, la température d'extraction étant plus élevée dans le pilote et le débit d'extrait plus important que pour l'étude sur la salade du fait de l'ajout de vapeur d'eau. La récupération de l'extrait est réalisée grâce à un vase florentin pour permettre la séparation directe des huiles essentielles et de la phase aqueuse par différences de densité.

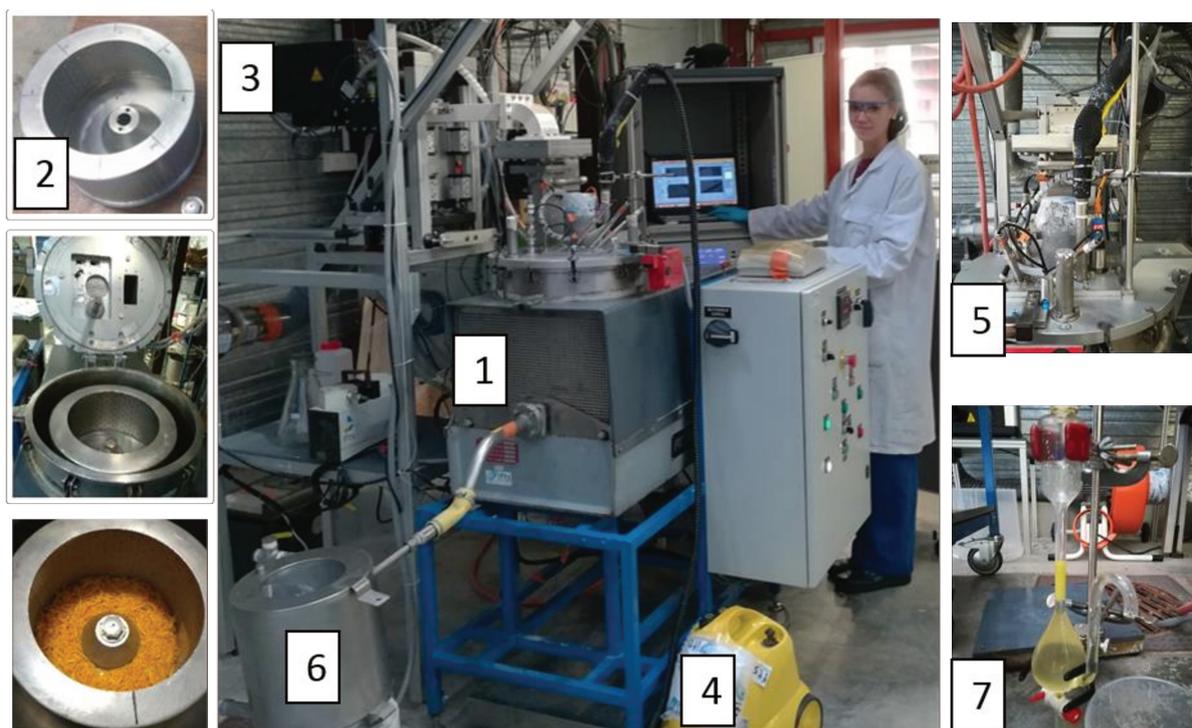


Figure VI.1 : Photos du pilote : 1) essoreuse ; 2) panier métallique ; 3) générateur micro-ondes ; 4) générateur de vapeur d'eau 5) buse d'injection de vapeur d'eau ; 6) condenseur acier ; 7) vase florentin permettant de récupérer les deux phases de l'extrait.

Dans une deuxième partie, les deux paramètres, densité de puissance micro-ondes et effet centrifuge, ont été optimisés pour maximiser le rendement en huiles essentielles grâce à un plan d'expériences.

Enfin, la troisième partie de ce travail a été consacrée à l'identification et à la caractérisation physico-chimique des extraits obtenus grâce à des études qualitatives et quantitatives. Une comparaison a été réalisée avec les méthodes de référence (hydrodistillation et extraction par solvant) en termes de rendement en molécules d'intérêt, de composition et de temps

d'extraction. Afin de mettre en évidence les effets physiques des techniques d'extraction sur la structure cellulaire des écorces d'oranges, des observations au microscope électronique à balayage ont complété l'analyse chimique. Cette partie a permis d'aboutir à une hypothèse de mécanismes se déroulant à l'échelle cellulaire à la base de l'extraction MO/C sur les écorces d'oranges.

VI.2 Pré-tests pour l'extraction d'huiles essentielles avec le pilote

VI.2.1 Choix de l'injection de vapeur d'eau pendant l'extraction MO/C

L'extraction de composés volatils sur le pilote nécessite de récupérer les vapeurs dégagées, chargées en molécules d'intérêt lors de l'application du chauffage. Pour améliorer cette récupération, plusieurs études ont montré l'intérêt d'injecter de la vapeur d'eau pendant l'extraction assistée par micro-ondes pour entraîner plus facilement les composés volatils vers la sortie du système d'extraction (Farhat et al., 2011; Sahraoui et al., 2011). Les premières expériences ont été menées pour développer le système d'injection de vapeur d'eau et déterminer l'aptitude de la technique MO/C à extraire des composés volatils tels que les huiles essentielles. Quatre expériences ont été réalisées, en configuration fermée, pour déterminer l'influence de trois paramètres d'extraction : la densité de puissance micro-ondes, l'effet centrifuge et l'injection de vapeur d'eau avec un débit maximum de 4 L/h (limitation du générateur de vapeur A). Le temps d'extraction a été fixé à 30 minutes ; il correspond au temps couramment utilisé lors d'extractions par micro-ondes (Périno-Issartier et al., 2013).

Les conditions expérimentales des quatre expériences conduites dans cette étude préliminaire sont rapportées dans le Tableau VI.1. La densité de puissance la plus souvent utilisée pour l'extraction sur les écorces d'oranges est 1 W/g (Farhat et al., 2011). Concernant l'effet centrifuge, il a été choisi de travailler à 179 G (*i.e.* 1 000 tr/min) pour l'effet centrifuge minimal (la vitesse de rotation utilisée dans l'étude sur la salade, 29 G, *i.e.* 400 tr/min, créant trop d'échauffement au niveau de l'axe du moteur de l'essoreuse) et à 2 515 G (*i.e.* 3 750 tr/min) pour le plus élevé, ce dernier correspondant à la vitesse utilisée pour la salade. La masse d'huile essentielle obtenue rapportée à la masse d'huile essentielle extraite par hydrodistillation (méthode de référence) permet de quantifier l'efficacité du procédé. L'expression de cette grandeur est donnée par :

$$\tau_{RHE} = \frac{\text{Masse HE extrait}}{\text{Masse HE extrait de référence}} \times 100$$

avec τ_{RHE} , rendement en huiles essentielles (%); masse HE extrait, masse d'huiles essentielles collectée dans l'extrait (g); masse HE extrait de référence, masse d'huiles essentielles dans l'extrait collecté par hydrodistillation (g).

La méthode de référence, l'hydrodistillation (réalisée en triplicat sur chaque lot), a permis d'évaluer le rendement maximal en huiles essentielles du lot d'écorces d'oranges utilisé pour les quatre expériences, noté x_{HE} ; grâce à l'expression :

$$x_{HE} = \frac{\text{Masse HE extrait HD}}{\text{Masse d'écorces fraîches}} \times 100$$

avec x_{HE} , masse spécifique en huiles essentielles (%); masse HE extrait HD, masse d'huiles essentielles collectée dans l'extrait obtenu par hydrodistillation (g); masse d'écorces fraîches, masse d'écorces d'oranges fraîches (chapitre IV.3.2.) utilisée pour l'hydrodistillation (g).

Pour les quatre expériences réalisées, il est de $0,9 \pm 0,1$ %.

La méthode de référence a également permis d'estimer la quantité d'huiles essentielles non extraite de la matrice végétale après extraction par le pilote (τ_{RHE} résidu). Ainsi, les pertes d'huiles essentielles pendant l'extraction MO/C peuvent être déterminées grâce à la soustraction suivante :

$$\text{Pertes (\%)} = \tau_{RHE} \text{ hydrodistillation} - (\tau_{RHE} \text{ pilote} + \tau_{RHE} \text{ résidu})$$

avec τ_{RHE} hydrodistillation = 100 %

Ces données permettent de calculer le bilan de matière et donc les pertes estimées pendant le procédé (Tableau VI.1).

Tableau VI.1 : Conditions expérimentales et rendements en huiles essentielles des expériences préliminaires pour déterminer les paramètres du pilote.

N°	Injection de vapeur d'eau	Densité de puissance micro-ondes (W/g)	Effet centrifuge (G)	τ_{RHE} pilote (%)	τ_{RHE} sur le résidu (%)	Emulsion	Pertes (%)
1	Non	1	179	28	57	Non	15
2	Oui	1	179	59	14	Oui	27
3	Oui	0	179	0,0	78	Oui	22
4	Oui	1	2 515	4	41	Oui	55

L'expérience n°1, sans injection de vapeur d'eau, permet d'obtenir un τ_{RHE} pilote de 28 % sur le pilote tandis que l'injection de vapeur d'eau à 4 L/h (expérience n°2) permet de doubler le rendement en huiles essentielles avec un τ_{RHE} pilote de 59 %. Cette différence indique clairement que l'injection de vapeur d'eau favorise l'extraction des huiles essentielles sur le pilote. Cependant, les huiles essentielles obtenues sont sous forme d'émulsion. Par conséquent, un traitement supplémentaire dans une centrifugeuse de laboratoire (7 200 G pendant 25 min, 20°C) doit être appliqué pour séparer les huiles essentielles de l'eau florale et calculer le rendement d'extraction.

L'expérience n°3 révèle que, sans application de micro-ondes, le τ_{RHE} pilote est nul. Cela indique que la pression exercée par l'effet centrifuge (2 515 G) sur les écorces d'oranges, même avec une injection de vapeur d'eau, est insuffisante pour rompre les parois des glandes sécrétrices d'huiles essentielles. Enfin, la combinaison d'un effet centrifuge élevé (2 515 G, *i.e.* 3 750 tr/min) associée à un chauffage par micro-ondes (expérience n°4), permet l'extraction de seulement de 4 % des huiles essentielles ; ce τ_{RHE} pilote est faible comparé à celui de l'expérience n°2 (même densité de puissance micro-ondes mais un plus faible effet centrifuge 179 G *i.e.* 1 000 tr/min) qui est de 59 %. De plus, les pertes lors de cette expérience (n°4) ont été évaluées à 55 %, elles sont élevées comparées à celles mesurées avec l'expérience n°2, (179 G) de 27 %. Une perte élevée en huiles essentielles est donc associée à un effet centrifuge élevé (expérience n°4). Cette perte s'explique par le fait qu'une partie des huiles essentielles n'est pas extraite de la matrice et par une autre partie qui est diffusée dans l'atmosphère environnante du pilote et également qui reste piégée dans le pilote. En effet, pendant l'extraction, une forte odeur d'huiles essentielles était présente et un papier absorbant placé

au niveau du couvercle de l'essoreuse présentait des tâches grasses reflétant la présence d'huiles essentielles. Lors de l'ouverture du pilote, en fin d'extraction, les parois métalliques du système étaient également grasses.

Dans cette étude préliminaire, le rendement le plus élevé en huiles essentielles a donc été obtenu avec l'injection de vapeur d'eau (4 L/h), une densité de puissance micro-ondes de 1 W/g et un effet centrifuge de 179 G (1 000 tr/min).

Ces quatre expériences permettent d'avoir trois informations importantes :

1. la densité de puissance serait le facteur limitant pour extraire des huiles essentielles à partir d'écorces d'oranges avec le pilote,
2. un effet centrifuge élevé pénalise l'extraction, et
3. l'injection de vapeur d'eau est nécessaire pour augmenter la récupération des huiles essentielles sur le pilote.

Ces éléments constitueront une base pour établir le plan d'expériences dans la suite de cette étude et optimiser les conditions d'extraction.

VI.2.2 Choix de la configuration du pilote

VI.2.2.1 Influence de l'aéraulique dans la machine sur l'extraction des huiles essentielles

Afin de comprendre le rôle de la circulation d'air et de la vapeur d'eau lors de l'extraction MO/C, une série d'expériences a été réalisée avec des mesures de la vitesse de l'air grâce à un anémomètre (Chapitre IV.5.3.5.). Différentes conditions d'utilisation ont été testées : la configuration ouverte ou fermée du pilote ainsi que plusieurs effets centrifuges avec ou sans injection de vapeur d'eau.

En configuration fermée, le débit d'air mesuré en sortie du pilote est de 0 m/s quel que soit le changement de vitesse de rotation et avec ou sans injection de vapeur d'eau au cours du temps. Le rôle de la convection induit par la rotation du panier est donc limité par l'obturation des entrées d'air.

En configuration ouverte, en revanche, plus la force centrifuge de l'essoreuse est élevée, plus la vitesse de sortie de l'air est élevée avec 5 m³/h pour 179 G (1 000 tr/min) et 26 m³/h pour 2 862 G (4 000 tr/min).

Afin de comprendre l'influence de la configuration du pilote sur le rendement en huiles essentielles et sur l'évolution des températures de la matrice végétale, six extractions MO/C sur les écorces d'oranges ont été réalisées en faisant varier la configuration du pilote (ouverte et fermée), l'effet centrifuge du panier et la présence d'une injection de vapeur d'eau ou non. En configuration fermée noté F, les extractions ont été réalisées en triplicat.

Le Tableau VI.2 présente les rendements en huiles essentielles obtenus lors de différentes extractions MO/C à une densité de puissance de 2,4 W/g (500 g d'écorces d'oranges et 1 200 W). Le débit de vapeur d'eau est de 2 L/h, fixé par le générateur de vapeur B et le temps d'extraction de 30 minutes.

Tableau VI.2 : Conditions opératoires et rendements des pré-tests réalisés sur les écorces d'oranges en extraction MO/C (triplicat pour F).

Expériences	Effet centrifuge (G)	Vapeur d'eau (débit : 2L/h)	x_{HE} hydrodistillation (%)	τ_{RHE} pilote (%)	τ_{RHE} résidu (%)	Pertes (%)
F	179	Oui		43 ± 14	26 ± 4	31 ± 18
O1	179	Oui	0,7 ± 0,1	Tr.	34	66
O2	2862	Oui		Tr.	51	49
O3	2862	Non		Tr.	87	13

F : configuration fermée ; O : configuration ouverte ; Tr. : Traces.

τ_{RHE} (%) en g/g

Pertes (%) = τ_{RHE} hydrodistillation - (τ_{RHE} pilote + τ_{RHE} résidu) avec τ_{RHE} hydrodistillation = 100 %

Le x_{HE} sur le lot de matrice végétale initiale utilisé pour cet extrait évalué par hydrodistillation est de 0,7 ± 0,1 %.

Seule l'extraction MO/C en configuration fermée, permet d'extraire les huiles essentielles d'écorces d'oranges avec un τ_{RHE} pilote de 43 ± 14 % alors qu'en configuration ouverte, les huiles essentielles ne sont présentes qu'à l'état de traces, avec ou sans vapeur d'eau additionnelle. Lors des extractions en configuration ouverte, des composés volatils sous forme gazeuse s'échappaient du système par l'ouverture située sur le couvercle du pilote, et ces dernières étaient très odorantes. Le τ_{RHE} résidu de l'expérience O3 est de 87 % ce qui est élevé comparé à ceux des autres extractions dans la même configuration : l'huile essentielle n'a donc pas été extraite des écorces d'orange en absence de vapeur d'eau. Le τ_{RHE} résidu de

l'extraction O2 réalisée avec le même effet centrifuge mais en présence de vapeur d'eau, est nettement inférieur (51 %) avec des pertes estimées à 49 %, ce qui laisse supposer que des huiles essentielles ont bien été extraites mais ont diffusé à l'extérieur du pilote par les ouvertures. Cette comparaison entre O2 et O3 permet donc de confirmer la présence indispensable de la vapeur d'eau pour faciliter l'extraction des huiles essentielles de la matrice végétale.

Le τ_{RHE} résidu de l'extraction O1 réalisé avec un faible effet centrifuge (179 G) et en présence de vapeur d'eau, est nettement inférieur (34 %) à celui obtenu avec une centrifugation de 2 862 G (O2, 51 %) avec des pertes estimées à 66 %. La comparaison entre O1 et O2 montrerait que plus l'effet centrifuge est élevé, moins la vapeur d'eau accède au produit et moins l'extraction est efficace.

VI.2.2.2 Profil de températures

La moyenne des mesures de température pour le triplicat en configuration fermée et les mesures pour O1, O2 et O3 en fonction du temps sont présentées en Figure VI.2. Les mesures sont effectuées directement au contact de la matrice végétale à l'aide de thermo-boutons, avec injection de vapeur d'eau, à 179 G pour F et O1 et 2 862 G pour O2 et O3 avec une densité de puissance micro-ondes de 2,4 W/g pendant 30 minutes.

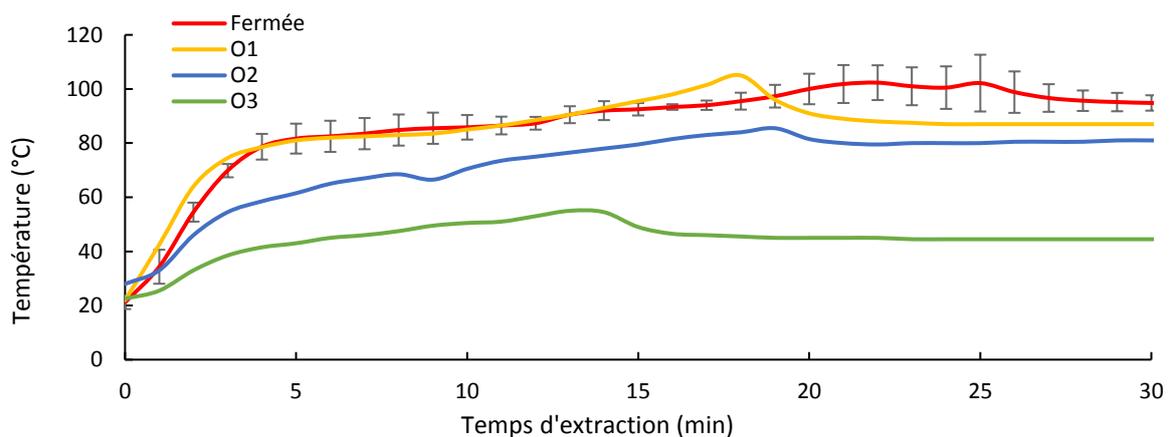


Figure VI.2 : Evolution des températures des écorces d'oranges pendant l'extraction MO/C (2,4 W/g et 179 G pour F et O1 ou 2 862 G pour O2 et O3), 30 min) en configuration fermée (F) et ouverte (O), avec ou sans (O3) injection de vapeur d'eau.

Pour l'extraction en configuration fermée, une rapide montée en température est observée passant de 20°C à 80°C en 4 minutes. Ensuite, les températures se stabilisent, autour d'un plateau entre 80°C et 90°C. Puis, en fin d'extraction, la matrice végétale atteint des températures maximales allant jusqu'à 100°C. Une bonne répétabilité des mesures est obtenue.

En revanche, pour la configuration ouverte, différentes conditions opératoires avaient été fixées. Les expériences O1 et O2 sont réalisées avec injection de vapeur d'eau, les gammes de températures au contact de la matrice végétale sont entre 80°C et 100°C pour O1 (179 G) et entre 70°C et 80°C pour O2 (2 862 G), tandis que la gamme de température pour O3, sans injection de vapeur d'eau, se situe entre 40°C et 60°C. L'injection de vapeur d'eau permet donc d'élever la température globale de la matrice végétale. L'extraction O1 a été réalisée à un effet centrifuge plus faible (179 G) que celles pour O2 et O3 (2 862 G). Les températures obtenues sont les plus importantes lors de l'application du plus faible effet centrifuge. Effectivement, avec un effet G de 2 862, le débit d'air entrant dans le pilote est plus élevé et induit un refroidissement plus important. L'expérience O1, atteint globalement des températures similaires à celles réalisées en configuration fermée. Cependant, les pertes de composés volatils sont plus importantes, et ne permet pas de collecter des huiles essentielles.

La configuration fermée avec injection de vapeur d'eau sur le pilote a donc été conservée pour le reste de l'étude afin d'obtenir une température élevée, nécessaire à l'extraction des huiles essentielles, et limiter les pertes des composés volatils sous forme gazeuse.

VI.3 Optimisation des paramètres opératoires : plan d'expériences

Comme pour l'étude sur la salade, deux paramètres du procédé ont été testés : la densité de puissance micro-ondes et l'effet centrifuge. Cette étude a été menée à l'aide d'un plan d'expériences avec comme réponse choisie le rendement d'extraction en huiles essentielles (τ_{RHE}) avec injection de vapeur d'eau (4 L/h) après 30 min d'extraction (Périno-Issartier et al., 2013). La masse d'écorces d'oranges était fixée à 500 g.

Le plan d'expériences choisi est un plan composite centré type de Box Wilson. Celui-ci permet d'évaluer non seulement les effets linéaires mais aussi d'éventuels effets quadratiques ainsi que les effets d'interactions entre les variables opératoires. Après avoir réalisé les extractions

(4 expériences correspondant au plan orthogonal, 4 expériences pour les points axiaux et 6 expériences au point central « 0,0 » pour vérifier la répétabilité), les résultats sont exploités par le logiciel Statgraphics (version 18).

Le Tableau VI.3 présente les extractions effectuées pour ce plan d'expériences ainsi que la réponse τ_{RHE} obtenue.

Tableau VI.3 : Différentes expériences d'extraction d'écorces d'oranges réalisées sur le pilote avec injection de vapeur d'eau (4L/h), un temps d'extraction de 30 minutes et une charge de 500 g d'écorces d'oranges en fonction des deux paramètres : densité de puissance micro-ondes et effet centrifuge.

Numéro d'identification des expériences	Variables décodées		Variables codées		τ_{RHE} (%)
	A : Densité de puissance micro-ondes (W/g)	B : Effet centrifuge (G)	A	B	
1	0,5	376	- 1	- 1	9 ± 3
2	0,5	2 068	- 1	+ 1	3 ± 3
3	2	376	+ 1	- 1	66 ± 3
4	2	2 068	+ 1	+ 1	31 ± 3
5	1,25	196	0	- α	33 ± 3
6	1,25	2 583	0	+ α	10 ± 3
7	0,19	1 052	- α	0	2 ± 3
8	2,31	1 052	+ α	0	54 ± 3
9	1,25	1 052	0	0	33 ± 3
10	1,25	1 052	0	0	37 ± 3
11	1,25	1 052	0	0	40 ± 3
12	1,25	1 052	0	0	33 ± 3
13	1,25	1 052	0	0	28 ± 3
14	1,25	1 052	0	0	33 ± 3

En comparant les valeurs du τ_{RHE} pour les expériences dont un paramètre est constant alors que le second varie, les conclusions suivantes sont obtenues :

- Lorsque la densité de puissance micro-ondes est à son niveau supérieur (+1), le τ_{RHE} augmente avec la décroissance de l'effet centrifuge passant de 31 ± 3 % (exp n°4, B = 2 068 G) à 66 ± 3 % le τ_{RHE} maximal (exp n°3, B = 376 G), pour son niveau inférieur (-1), un comportement similaire de τ_{RHE} est observé, passant de 3 ± 3 % à 9 ± 3 %.

- Lorsque la densité de puissance micro-ondes est au niveau zéro, observation similaire, le τ_{RHE} augmente avec la décroissance de l'effet centrifuge passant de $10 \pm 3 \%$ (exp n°6, B = 196 G) à $33 \pm 3 \%$ (exp n°5, B = 196 G).
- Lorsque l'effet centrifuge est au niveau zéro, s'il est combiné à une densité de puissance micro-ondes très faible ($-\alpha$), l'extraction est minime avec un τ_{RHE} de $2 \pm 3 \%$ alors qu'avec une forte densité de puissance ($+\alpha$), le τ_{RHE} atteint une des valeurs les plus élevées du plan d'expérience ($54 \pm 3 \%$).
- Les extractions réalisées à faible densité de puissance micro-ondes (inférieure ou égale à 0,5 W/g) conduisent à des τ_{RHE} inférieurs à 10 % (expériences 1, 2 et 7). Ces résultats confirment ceux obtenus lors des pré-tests avec un τ_{RHE} nul lorsque les micro-ondes ne sont pas appliquées.
- Les résultats obtenus pour les expériences relatives aux répétitions au centre du plan montrent une bonne répétabilité (96 %) des extractions réalisées sur le pilote avec une moyenne de τ_{RHE} de $34 \pm 3 \%$ ce qui confirme les résultats obtenus lors des pré-tests effectués précédemment.

Ces éléments permettent de conclure que le paramètre « densité de puissance micro-ondes » est le facteur limitant pour l'obtention d'huiles essentielles à partir d'écorces d'oranges pour l'extraction par MO/C sur le pilote comparé au paramètre « effet centrifuge ».

Le diagramme de Pareto des effets standardisés présenté en Figure VI.3 montre les effets significatifs des deux variables A et B (linéaire, quadratique et interactions entre variables). La longueur des barres pour chaque paramètre ou interaction caractérise l'importance des effets estimés. La ligne verticale représente la limite entre les effets significatifs et non significatifs avec un risque d'erreur de 5 %. Quatre effets sont significatifs à un niveau de confiance de 95 % dans le domaine expérimental étudié ($P < 5 \%$) : les effets linéaires des deux variables A et B et de l'interaction AB sont les plus significatifs. L'effet centrifuge a un effet négatif sur le rendement d'huiles essentielles tandis que la densité de puissance a un effet positif. Une forte interaction est présente entre les deux variables et elle a un effet négatif pour les effets centrifuges compris entre 196 et 2 583 G. Les effets quadratiques ne sont pas significatifs.

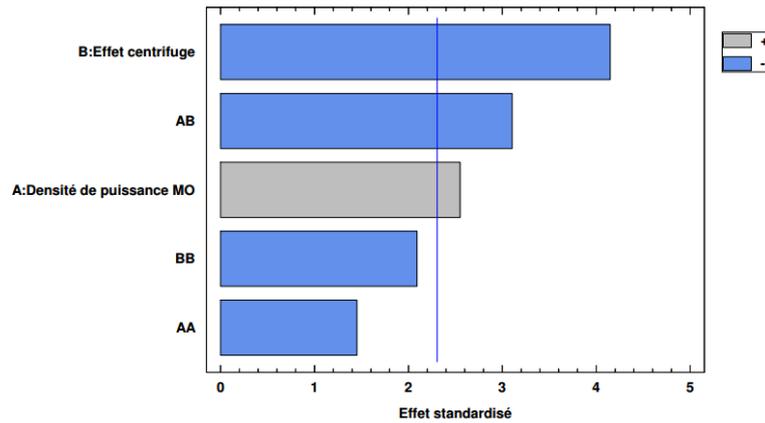


Figure VI.3: Diagramme de Pareto pour le rendement en huiles essentielles.

La relation entre les différentes variables opératoires et la réponse étudiée est illustrée dans la représentation tridimensionnelle de la surface de réponse (Figure VI.4).

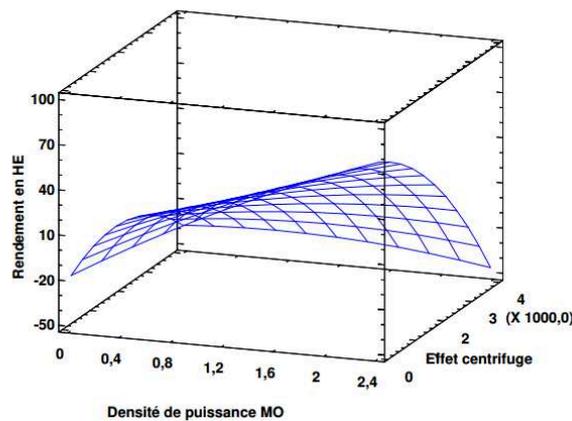


Figure VI.4 : Surface de réponse estimée en fonction de la densité de puissance micro-ondes (W/g) et de l'effet centrifuge (G) pour le rendement en huiles essentielles τ_{RHE} (%).

Le τ_{RHE} est une fonction croissante de la densité de puissance micro-ondes. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'une forte densité de puissance micro-ondes importante correspond à une température d'extraction élevée. L'eau contenue dans les cellules végétales atteindra la température d'ébullition, ce qui provoquera la destruction des glandes sécrétrices libérant ainsi leur contenu dont les huiles essentielles entraînées ensuite par la vapeur d'eau (Farhat, 2010).

La Figure VI.5 affiche les variations estimées de la réponse τ_{RHE} lorsque chacun des facteurs A et B passe de son niveau bas à son niveau haut. Un début d'effet de saturation est observé pour l'effet centrifuge à 376 G, et il est clairement visible que son augmentation contribue à un τ_{RHE} moins élevé. Les résultats suggèrent qu'une augmentation de la densité de puissance micro-ondes avec un faible effet centrifuge (< 376 G) permettrait d'optimiser le τ_{RHE} . Plusieurs phénomènes peuvent expliquer ce résultat. En premier lieu, le refroidissement par convection du produit dû à la rotation du panier peut pénaliser l'extraction des huiles essentielles. En effet, la température de surface du produit est plus faible lorsque l'effet centrifuge est élevé. Un deuxième effet, est également dépendant de l'aérodynamique dans la machine ; la vapeur d'eau serait entraînée par l'air produit par la rotation du panier et ne pourrait pas accéder jusqu'à la matrice végétale qui conduirait à un entraînement réduit des huiles essentielles. Enfin les fuites de vapeurs par les parties non étanches de la machine sont plus importantes aux vitesses de rotation les plus élevées.

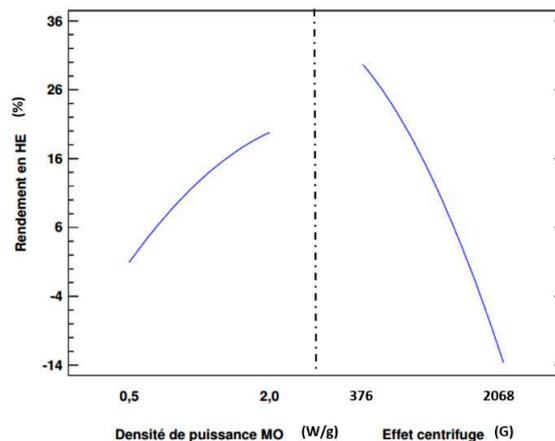


Figure VI.5 : Graphique des principaux effets, à droite la densité de puissance micro-ondes de 0,5 à 2,0 W/g et à gauche l'effet centrifuge de 376 à 2 068 G en fonction du rendement en huiles essentielles en %.

Les coefficients de régression du modèle conduisent à une équation permettant de prévoir le rendement en huiles essentielles τ_{RHE} (%), en fonction des deux paramètres étudiés : A, la densité de puissance micro-ondes (W/g) et B, l'effet centrifuge (G) :

$$\tau_{RHE} (\%) = 49,2051 \times A + 0,0155856 \times B - 4,22118 \times A^2 - 0,0107555 \times A \times B - 5,01732 \times 10^{-6} \times B^2 - 17,8408$$

A part les effets linéaires, le modèle prend en compte les effets quadratiques x_i^2 et les effets d'interactions. Le coefficient de détermination est de 0,96.

Le modèle déterminé par le plan d'expériences est satisfaisant. Les paramètres opératoires optimisés pour maximiser le rendement en huiles essentielles d'écorces d'oranges ont été déterminés par Statgraphics pour 500 g d'écorces, 30 minutes d'extraction et injection de vapeur d'eau (4 L/h) : une densité de puissance micro-ondes de 2,4 W/g associé à un effet centrifuge de 196 G (Figure VI.4). Le rendement en huiles essentielles expérimentalement obtenu est de $60 \pm 7 \%$ contre $71 \pm 3 \%$ calculé grâce aux données du plan d'expériences. Le τ_{RHE} expérimental n'atteint donc pas tout à fait le τ_{RHE} théorique du plan d'expériences. Néanmoins, ce pourcentage confirme une bonne performance du pilote dans sa configuration actuelle en dépit des difficultés à comprendre les phénomènes d'extraction et à exploiter pleinement le potentiel de la machine. Le faible effet centrifuge de 196 G (*i.e.* 1 046 tr/min) pour obtenir ces rendements, peut s'expliquer par le fait que les huiles essentielles sont des composés volatils et que leur extraction est directement affectée par la circulation de la vapeur d'eau et d'air dans le système. Cela est moins le cas pour les composés non volatils tels que les composés phénoliques comme cela a été montré dans l'étude sur la salade précédente.

Deux expériences avec un effet centrifuge négligeable (16 G, *i.e.* 300 tr/min) à 2,4 W/g ont été autorisées et réalisées pour tenter de déterminer l'effet centrifuge permettant d'obtenir le rendement en huiles essentielles le plus élevé et confirmer l'allure de la courbe de la Figure VI.5. Dans ces conditions, le τ_{RHE} obtenu est de $32 \pm 5 \%$ donc similaires à ceux déterminés avec les paramètres utilisés au centre du plan ($34 \pm 3 \%$). Ce résultat suggère que la relation entre l'effet centrifuge et la densité de puissance micro-ondes n'est pas linéaire jusqu'à un effet centrifuge négligeable. La vitesse de rotation du panier joue, de fait, un rôle complexe pour l'extraction des huiles essentielles. Elle semble pénaliser les mécanismes d'extraction aux fortes densités de puissances micro-ondes, mais il semble qu'une valeur minimale soit nécessaire pour assurer des volumes extraits conséquents.

Cette étude a été ensuite complétée par les analyses qualitatives et quantitatives des huiles essentielles issues de l'extraction par MO/C.

De plus, lors des extractions MO/C, deux phases sont récupérées : la première contient les huiles essentielles et la seconde est une phase aqueuse. L'écorce d'orange présentant des composés phénoliques, ces molécules ont été recherchées dans la phase aqueuse collectée en réalisant des analyses qualitatives et quantitatives par chromatographie liquide.

VI.4 Composition des huiles essentielles

La composition des huiles essentielles a été analysée sur des extraits obtenus par hydrodistillation (HD – l'extraction de référence), puis comparée à celles des extraits obtenues par MO/C (2 W/g; 2 068 g) et MO/R (2 W/g; 376 g) ; deux extractions issues du plan d'expériences réalisé précédemment (Tableau VI.4).

Il n'y a pas de différence qualitative en fonction de la technique utilisée ; 42 composés ont été identifiés et classés selon leur famille, monoterpènes et sesquiterpènes oxygénés et non oxygénés ainsi que des aldéhydes et des esters carboxyliques (Tableau VI.4). Les quantités de composés non oxygénés sont largement supérieures à celles des composés oxygénés en raison de la quantité importante de limonène extrait. Le limonène est le composé principal des huiles essentielles des écorces d'oranges, avec un pourcentage moyen de 95 % pour les procédés HD, MO/C et MO/R, en accord avec les études publiées (Del Bosco et al., 2013), mais sa contribution à la qualité organoleptique de l'huile essentielle d'orange n'est pas très importante au regard de son seuil de perception élevé (concentration minimale pour laquelle une odeur est perceptible) (Plotto et al., 2004).

Tableau VI.4: Composition chimique des huiles essentielles d'écorces de *Citrus sinensis* obtenues par hydrodistillation et procédés MO/C et MO/R analysés par chromatographie en phase gazeuse.

N°	Composés ^a	R.I. ^b	HD (%) ^c	MO/C (%) ^d	MO/R (%) ^e
Monoterpènes					
1	Alpha Pinène	929	0,43	0,31	0,32
2	Sabinène	968	0,23	0,54	0,54
3	Béta Pinène	972	0,51	0,55	0,52
4	Béta Myrcène	987	1,87	1,66	1,72
5	Alpha Phellandrène	1003	tr.	tr.	0,07
6	Delta 3-Carène	1006	0,07	0,06	0,06
7	Alpha Terpinène	1014	0,08	0,04	0,02
8	p-Cymène	1021	0,07	0,14	0,09
9	Limonène	1024	94,91	94,69	95,22
10	Ocimène cis	1035	tr.	tr.	0,02
11	Béta Ocimène trans	1044	0,06	0,05	0,05
12	Gamma Terpinène	1054	0,42	0,55	0,35
13	Terpinolène	1082	0,14	0,12	0,12
Monoterpènes oxygénés					
14	Linalol	1099	0,16	0,19	0,17
15	Trans Limonène 1,2-époxyde	1132	tr.	0,03	0,03
16	Citronellal	1149	0,03	0,05	0,05
17	4-terpinéol	1175	0,09	0,03	0,02
18	Alpha Terpinéol	1191	0,05	0,04	0,03
19	Nérol	1222	tr.	tr.	tr.
20	Néral	1233	0,03	0,04	0,03
21	Carvone	1237	tr.	tr.	tr.
22	Géranial	1264	0,05	0,06	0,05
23	Périlla aldéhyde	1268	tr.	tr.	0,01
24	Néryl acétate	1356	0,03	0,02	0,02
Sesquiterpènes					
25	Alpha Copaène	1368	0,01	0,03	0,02
26	Géranyl acétate	1376	0,02	tr.	0,01
27	Béta Cubébène	1381	tr.	0,01	0,01
28	Béta Elémène	1383	0,02	tr.	tr.
29	Béta Caryophyllène	1409	0,04	0,06	0,04
30	Béta Gurjunène	1420	0,02	0,03	0,02
31	Germacrène D	1471	0,01	tr.	0,01
32	Gamma Selinène	1474	tr.	tr.	tr.
33	Valencène	1483	tr.	tr.	tr.
Sesquiterpènes oxygénés					
34	Nootkatone	1786	0,06	0,01	0,01
Aldéhydes et Esters carboxyliques					
35	Octanal	1002	0,07	0,11	0,00
36	Nonanal	1103	0,03	0,04	0,03
37	Ethyl Octanoate	1195	tr.	tr.	tr.
38	Décanal	1204	0,35	0,39	0,26
39	Undécanal	1305	0,02	0,02	0,01

N°	Composés ^a	R.I. ^b	HD (%) ^c	MO/C (%) ^d	MO/R (%) ^e
Aldéhydes et Esters carboxyliques					
40	Méthyl décanoate	1322	0,02	0,02	0,01
41	Octyl Butanoate	1387	0,03	0,02	0,01
42	Dodécanal	1406	0,08	0,07	0,05
Total			100,01	99,98	99,99
Total des composés oxygénés			1,10	1,14	0,78
Total des composés non oxygénés			98,91	98,84	99,21

^a Composés d'huiles essentielles classés par familles chimiques et pourcentages calculés par GC-FID sur colonne capillaire ZB-5MS.

^b Indices de rétention relatifs aux n-alcane en C7 à C30 calculés sur une colonne capillaire ZB-5MS non polaire.

^c Hydrodistillation.

^d Procédé Micro-Ondes/Centrifugation (2 W/g; 2 068 G).

^e Procédé Micro-Ondes/Rotation (2 W/g; 376 G).

Composés olfactivement actifs (Chisholm et al., 2003; Högnadóttir and Rouseff, 2003).

Les aldéhydes contribuent largement à l'arôme caractéristique des huiles essentielles d'oranges (Chisholm et al., 2003; Högnadóttir and Rouseff, 2003), même si leur quantité est faible par rapport aux monoterpènes (Plotto et al., 2004). Le linalol avec une odeur florale importante contribue à l'arôme total des huiles. En comparant les teneurs en décanal, octanal, géraniol et linalol, on constate que leurs concentrations sont plus élevées dans l'extrait obtenu par MO/C, avec 0,75 % des composés volatils quantifiés, que dans ceux obtenus avec le MO/R et l'HD avec, respectivement, 0,48 et 0,63 %. La proportion de linalol est légèrement supérieure pour les extractions MO/C avec 0,19 % et MO/R avec 0,17 % contre 0,16 % en HD tandis que la proportion du 4-terpinéol est plus élevée dans l'extrait HD (0,09 %) que dans les extraits MO/C et MO/R avec 0,03 % et 0,02 %, respectivement. Le linalol en présence d'eau a tendance à se dégrader en 4-terpinéol (Filly et al., 2016) (Figure VI.6) ; en hydrodistillation, le contact entre la matrice végétale et l'eau est suffisamment long (deux heures) pour générer les différences observées.

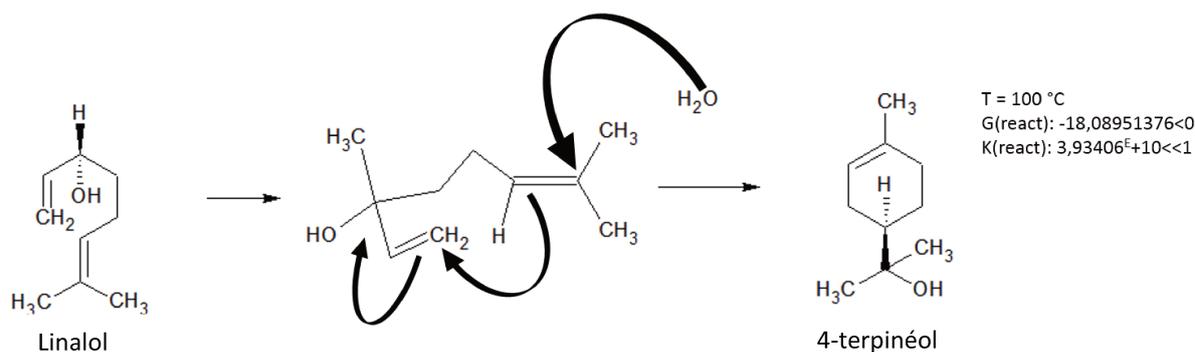


Figure VI.6 : Formation du 4-terpinéol à partir du linalol (Filly et al., 2016).

Si, enfin, la proportion globale de composés oxygénés qui possèdent dans la plupart des cas, des seuils de perception plus bas est comparée à celle des composés non oxygénés de l'huile essentielle d'écorce d'orange, on constate des proportions plus élevées dans les fractions obtenues par HD (1,10 %) et MO/C (1,14 %) que dans celles obtenues MO/R (0,78 %). En conséquence, la qualité olfactive des huiles essentielles obtenues en MO/C pourrait être de qualité égale ou même supérieure à celle obtenue par HD.

Ces résultats ont montré que les micro-ondes accélèrent fortement le processus d'extraction. En effet, le temps d'extraction pour le pilote est de 30 minutes contre 2 heures en hydrodistillation, et sans modifier considérablement la composition de l'huile essentielle, un phénomène qui est déjà décrit dans la littérature (Chemat et al., 2006; Paré and Bélanger, 1997; Sahraoui et al., 2011). La nouvelle technique permet donc d'obtenir un rendement de 60 % en huiles essentielles avec une qualité égale ou même légèrement supérieure comparée à celles obtenues par hydrodistillation avec un temps d'extraction réduit par 4.

VI.5 Analyses de composés phénoliques présents dans l'extrait aqueux

Lors de l'extraction MO/C, de la vapeur d'eau est injectée afin d'intensifier le rendement en huiles essentielles. Le mélange vapeur d'eau (vapeur d'eau injectée et vapeur de l'eau « *in situ* » des écorces d'oranges) avec les huiles essentielles est condensé et collecté grâce à un vase florentin. Le mélange récupéré se présente sous forme de deux phases : la phase supérieure lipophile contenant les huiles essentielles et la phase inférieure aqueuse orangée contenant différentes molécules dont des composés phénoliques. Une fois les huiles

essentielles collectées, le second objectif de cette étude est de valoriser cette phase aqueuse et donc de la caractériser par des analyses physico-chimiques.

VI.5.1 Identification de composés phénoliques

Dans l'extrait obtenu par l'extraction de référence, quarante composés phénoliques ont été identifiés dans les écorces d'oranges ; les principaux sont reportés et numérotés selon leur ordre d'éluion dans le Tableau VI.5. Le chromatogramme UPLC DAD typique de l'extrait DMSO/MeOH à 330 nm (Figure VI.7a) présente un pic principal (12), deux autres pics importants quantitativement (16 et 18) et dix-sept pics mineurs (1 à 11, 13 à 15, 17, 19 et 20).

Tableau VI.5: Identification des composés phénoliques présents dans l'extrait d'écorces d'oranges obtenu par extraction par solvant.

N° Pic	RT (min)	λ max (nm)	ions parents m/z	ions MS ² m/z	Proposition d'identification	Classes de phénols
1	3,9	309	355 = [M-H] ⁻	191	Coumaroyl glucarate	Cinnamique
2	4,2	313	385 = [M-H] ⁻ 355 = [M-H] ⁻	191 191	Féruloyl glucarate Coumaroyl glucarate	Cinnamique Cinnamique
3	4,7	320	385 = [M-H] ⁻	191	Féruloyl glucarate	Cinnamique
4 ^a	4,8	325	385 = [M-H] ⁻	191	Féruloyl glucarate	Cinnamique
5	5,6	322	385 = [M-H] ⁻	191	Féruloyl glucarate	Cinnamique
6	6,1	331	385 = [M-H] ⁻	223	Sinapoyl glucose	Cinnamique
7	6,9	326	593 = [M-H] ⁻	473	Vicénine II (Apigénine 6,8-di-C-glucoside)	Flavone
8	7,2	339- 346	623 = [M-H] ⁻ 757 = [M-H] ⁻	503 595	Chrysoériol-7-diglucoside Eriodictyol 7 rutinoside caféoyl	Flavanone Flavone
9	7,8	322	613 = [M-H] ⁻	195	Dérivé d'acide hydroxycaféique	Cinnamique
10	8,6	326	649 = [M-H] ⁻	563	Apigénine 7-O-(6''-malonyl-apiosyl-glucoside)	Flavone
11	9,6	283	579 = [M-H] ⁻	271	Naringénine 7-O-rutinoside	Flavanone
12 ^b	10,3	287	609 = [M-H] ⁻	301	Hespéridine (Hespéritine 7-O-rutinoside)	Flavanone
13	11,6	285	609 = [M-H] ⁻	301	Néohespéridine (Hespérétine 7-O-néohespéridoside)	Flavanone
14	12,2	351	633 = [M-H] ⁻	427	Obacunone glucoside	Limonoïde
15	12,8	283	593 = [M-H] ⁻	285	Lutéoline 7-O-rutinoside ou Kaempférol 3-O-rutinoside	Flavonol
16	16,6	/	403 = [M+H] ⁺	373	Nobilétine	Flavone
17	17,0	332	373 = [M+H] ⁺	403	Sinensétine ou Tangéritine	Flavone
18	17,4	338	403 = [M+H] ⁺	373	Nobilétine	Flavone
19	17,6	339	433 = [M+H] ⁺	403	3-Méthoxynobilétine	Flavone
20	17,8	331	373 = [M+H] ⁺	343	Sinensétine ou Tangérétine	Flavone

^a composé majeur obtenu par le procédé MO/C^b composé majeur obtenu par extraction par solvant

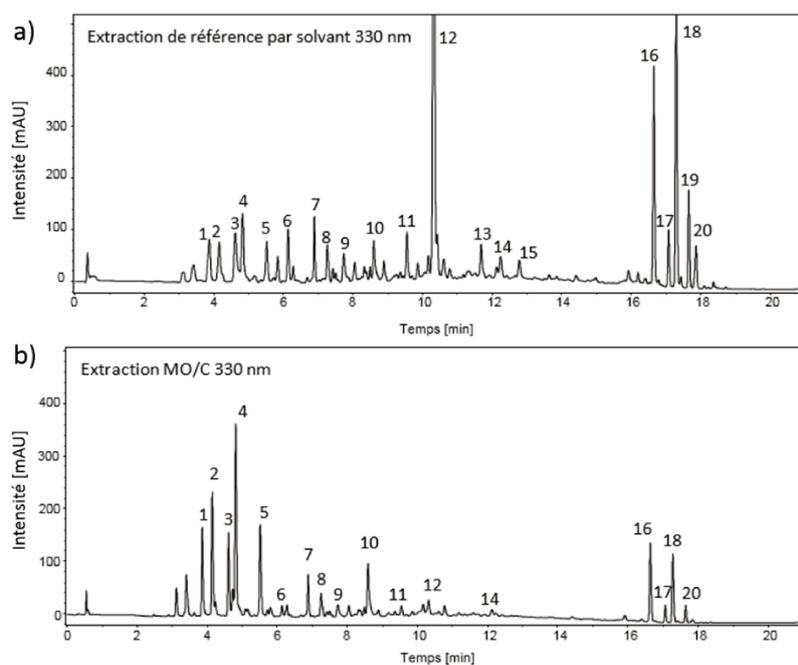


Figure VI.7 : Identification des composés phénoliques présents à 330 nm dans un extrait d'écorces d'oranges obtenu par : a) extraction par solvant et b) par extraction MO/C.

Le composé majoritaire (12) (temps de rétention (TR) = 10,3 min) possède un maximum d'absorption à 287 nm. Ses spectres ESI-MS présentent un ion parent à m/z 609 et un ion fragment à m/z 301 permettant d'identifier l'hésperidine (héspéritine 7-*O*-rutinoside). Les composés 16 et 18, avec des TR respectivement de 16,4 et de 17,0 min, présentent un ion parent à m/z 403 et sont identifiés comme étant deux isomères de la nobilétine, une méthoxyflavone (Borah et al., 2017). Le pic 19 (TR = 17,6 min) est identifié comme étant la 3-méthoxynobilétine.

Les pics 17 (TR = 16,6 min) et 20 (TR = 17,8 min) sont identifiés comme étant respectivement la sinensétine et la tangéritine (Anagnostopoulou and Kefalas, 2012; M'hiri et al., 2015). Les composés 1 et 2 avec un m/z de 355 et un ion fragment à m/z 191 pourraient être du coumaroyl glucarate comme publiés par Risch et al., (1988) et Rodríguez-Rivera et al., (2014). De même, les composés 3 (TR = 4,7 min), 4 (TR = 4,8 min) et 5 (TR = 5,6 min) avec un m/z de 385 et un ion fragment m/z de 191 pourraient être du féruloyl glucarate (Rodríguez-Rivera et al., 2014). Le composé 2 est une coélution de féruloyl et coumaroyl glucarate. Le composé 6 (TR = 6,1 min) avec un m/z de 385 et un ion fragment à m/z de 223 est identifié comme étant du sinapoyl glucose. Certaines flavones sont également identifiées : apigénine 6,8-di-C-

glucoside (7, TR = 6,9 min), ériodictyol 7-rutinoside caféoyl (8, TR = 7,2 min) et apigénine 7-O-(6''- malonyl-aposyl -glucoside) (10, TR = 8,6 min). D'autres composés déjà identifiés dans *Citrus sinensis* ont été détectés : un dérivé d'acide hydroxycaféique (9, TR = 7,8 min), un glucoside d'obacunone (14, TR = 12,2 min), la lutéoline 7-O-rutinoside ou kaempférol 3-O-rutinoside (15, TR = 12,8 min) selon leurs m/z, leurs ions fragments et leurs spectres UV. Des flavanones telles que le chrysoériol-7-diglucoside (8, TR = 7,2 min), la naringénine -O-rutinoside (11, TR = 9,6) et l'hespérétine 7-O-néohepéridoside (13, TR = 11,6 min) sont également identifiées.

Le profil chromatographique de l'extrait d'écorces d'oranges obtenu par le procédé MO/C montre la présence de dérivés hydroxycinnamiques. Les féruloyle et coumaroyl de glucurate (1, 2, 3, 4 et 5) sont les composés majoritaires avec les deux flavones : l'apigénine 6,8-di-C-glucoside (7) et l'apigénine 7-O-(6''- malonyl-aposyle)-glucoside (10). La nobilétine (pics 16 et 18) est également extraite. Les flavanones comme l'hespéridine, les flavonols et le limonoïde ne sont pas extraits par la technique MO/C. La 3-méthoxynobilétine est partiellement extraite ainsi que la sinensétine et de tangéritine.

L'hespéridine, flavanone représentative des agrumes avec une solubilité dans l'eau de 0,02 g/L, n'est pas extraite avec l'extraction MO/C qui utilise uniquement de l'eau pour collecter les composés phénoliques. Cependant, cette technique semble être performante pour l'extraction d'acides hydroxycinnamiques, molécules plus hydrophiles comparées aux flavanones.

VI.5.2 Quantification de composés phénoliques

Pour comparer les quantités obtenues selon les techniques d'extraction réalisées, dans les expériences suivantes, les surfaces des pics de trois composés séparés par UPLC DAD, le pic n°4 (féruloyle glucurate, FG), le pic n°12 (hespéridine, H) et le pic n°20 (tangéritine, T) qui représentent les principales classes de composés phénoliques présentes ont été considérées (Figure VI.8). Les quantités sont exprimées en équivalent standard $\mu\text{g/g}$ de matière fraîche (MF). Les extractions MO/C présentées sont issues du plan d'expériences précédemment effectué ; elles ont été sélectionnées pour visualiser dans un premier temps l'influence du paramètre « densité de puissance micro-ondes » et dans un second temps celle du paramètre « effet centrifuge » sur le rendement en composés phénoliques. Elles sont toutes réalisées

avec injection de vapeur d'eau (4 L/h), 500 g d'écorces d'oranges et pendant 30 min. Les résultats seront ensuite comparés à la méthode de référence : l'extraction par solvant.

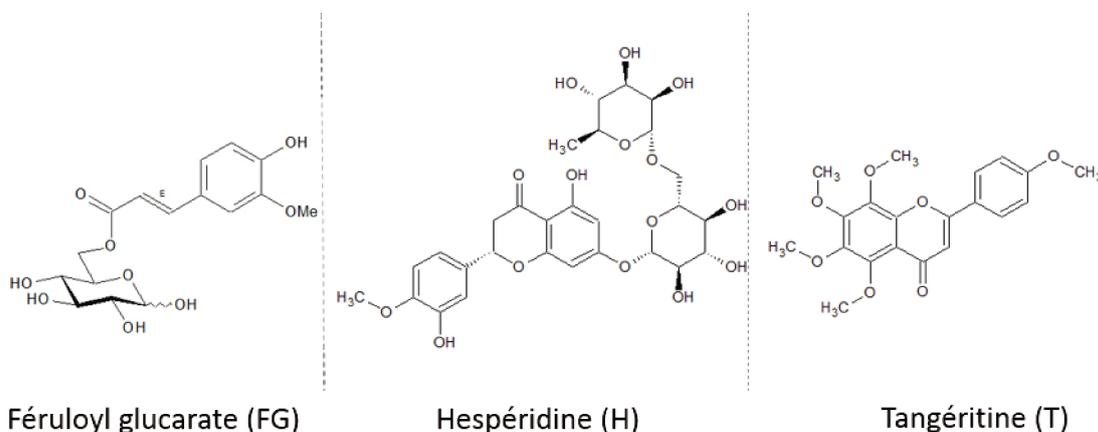


Figure VI.8 : Les trois composés phénoliques sélectionnés : le féruloyl glucarate (FG), l'hespéridine (H) et la tangéritine (T).

VI.5.2.1 Influence de la densité de puissance micro-ondes

L'influence de la densité de puissance micro-ondes est étudiée sur la teneur de trois composés phénoliques extraits à partir d'écorces d'oranges. La Figure VI.9 présente trois expériences sélectionnées à un même effet G (1 052 G, *i.e.* 2 425 tr/min) mais avec une densité de puissance micro-ondes différente de 0,19, 1,25 et 2,3 W/g. L'extraction à 0,19 W/g est considérée comme la référence puisqu'elle permet d'obtenir la plus grande teneur des trois composés phénoliques sélectionnés et constituera donc le 100 %. Ce résultat est en contraste avec la densité de puissance optimale retenue lors de l'étude réalisée sur la salade (1,2 W/g). Pour les écorces d'oranges, une plus faible densité de puissance, 0,19 W/g, permet d'extraire une plus grande quantité des composés phénoliques sélectionnés que 1,2 W/g.

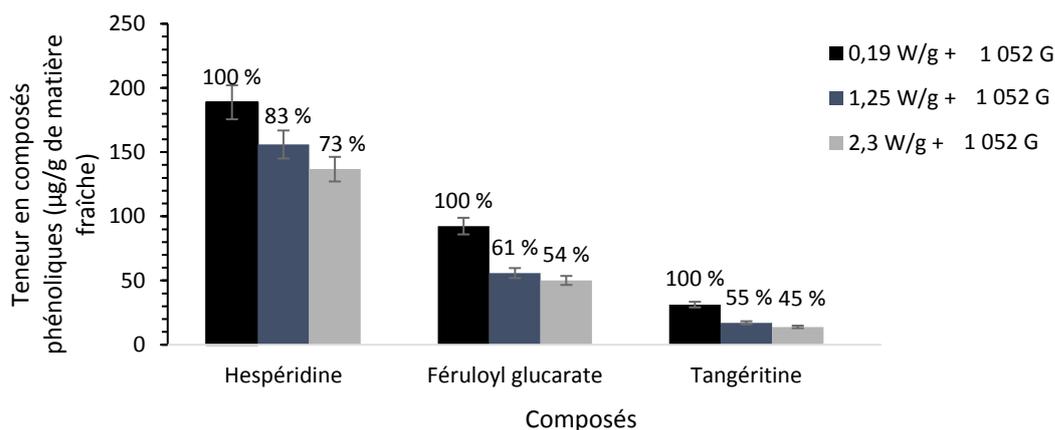


Figure VI.9 : Teneur de trois composés phénoliques ($\mu\text{g/g}$ de MF) pendant l'extraction MO/C à 1 052 G, avec injection de vapeur d'eau, temps de traitement de 30 min et densité de puissance micro-ondes de 0,19 W/g (noir), 1,25 W/g (gris foncé) et 2,3 W/g (gris).

L'expérience réalisée avec une densité de puissance micro-ondes de 0,19 W/g permet extraire $92 \pm 6 \mu\text{g/g}$ de MF pour le FG alors que $56 \pm 3 \mu\text{g/g}$ de MF sont extraits pour une densité de puissance supérieure de 1,25 W/g, soit un gain de 39 % en ce composé. Un gain est obtenu, également, pour les deux autres composés, de 17 % pour H et de 45 % pour T entre 0,19 W/g et 1,25 W/g. La différence quantitative entre les résultats obtenus à des densités de puissances micro-ondes de 1,25 W/g et 2,3 W/g est moins marquée. La quantité de composés phénoliques la plus élevée a été extraite avec la plus faible puissance micro-ondes appliquée pour un effet centrifuge de 1 052 G.

VI.5.2.2 Comparaison entre la méthode de référence et l'extraction MO/C et influence de l'effet centrifuge

Les résultats concernant les composés phénoliques sélectionnés obtenus grâce à une extraction de référence et aux deux extractions MO/C du plan d'expériences à 2 W/g à des effets centrifuges distincts : 376 G et 2 068 G (*i.e.* 1 450 et 3 400 tr/min) sont présentés dans le Tableau VI.6. La comparaison avec l'extraction de référence est réalisée ainsi que l'influence de l'effet centrifuge sur les trois composés phénoliques considérés.

Tableau VI.6 : Comparaison de la teneur en composés phénoliques obtenue par l'extraction de référence et par extractions MO/C à 2 W/g et 376 ou 2 068 G, exprimée en $\mu\text{g/g}$ de matière fraîche.

Technique extraction	Hespéridine ($\mu\text{g/g}$ de MF)	Féruloyle glucarate ($\mu\text{g/g}$ de MF)	Tangéritine ($\mu\text{g/g}$ de MF)
Extraction par solvant	9857 ± 278	106 ± 1	622 ± 4
MO/C, 2 W/g et 376 G	82 ± 6	28 ± 2	$4,2 \pm 0,3$
MO/C, 2 W/g et 2 068 G	116 ± 8	72 ± 5	13 ± 1

L'extraction par solvant (ES) permet d'obtenir $9\,857 \pm 278$ $\mu\text{g/g}$ de MF d'hespéridine (H) tandis que les extractions MO/C permettent d'extraire au maximum 116 ± 8 $\mu\text{g/g}$ de MF, pour les conditions opératoires considérées. Pour la tangéritine (T), 622 ± 4 $\mu\text{g/g}$ de MF sont extraits par l'ES et seulement 13 ± 1 $\mu\text{g/g}$ de MF au maximum par MO/C. L'extraction MO/C ne permet donc pas d'extraire H et T. En revanche pour le féruloyle glucarate (FG), l'extraction MO/C (2 068 G) permet d'obtenir 72 ± 5 $\mu\text{g/g}$ de MF et l'ES, 106 ± 1 $\mu\text{g/g}$ de MF. Si les facteurs entre les deux techniques sont calculés, l'ES permet d'extraire 85 fois plus de H, 48 fois de plus de T et 1,5 fois de plus de FG que MO/C (2 068 G), pour les conditions opératoires considérées. L'écart entre les deux techniques pour FG est donc beaucoup plus réduit comparé aux deux autres composés H et T.

L'extraction MO/C (2 068 G) ne permet pas d'extraire H et T mais obtient un bon rendement pour FG, cette observation peut être expliquée par le $\log(P)$ relatif à chacune des molécules étudiées. Le $\log(P)$ permet d'estimer le caractère lipophile ou hydrophile des molécules, plus celui-ci est proche de 0, plus la molécule est hydrophile. Le $\log(P)$ de FG est de 1 pour FG, celui de T est de 2,66 et celui de H est de 1,78 (données ACDlab). Le FG a donc un caractère plus hydrophile que celui de T et H. Son extraction est donc facilitée pendant MO/C contrairement à H et T plus lipophiles qui ne peuvent pas être extraites uniquement par de la vapeur d'eau ou l'eau « *in situ* » des écorces d'oranges.

Concernant l'influence de l'effet centrifuge, les résultats sont exprimés en pourcentage de composés extraits avec la méthode qui permet la meilleure extraction soit 2 W/g et 2 068 G. L'expérience à 376 G permet d'extraire 28 ± 2 $\mu\text{g/g}$ de MF pour FG comparé à 72 ± 5 $\mu\text{g/g}$ de MF à 2 068 G. La différence entre ces deux expériences, lorsque l'effet centrifuge passe de 376 G à 2 068 G, représente un gain de 61 % de FG et ce dernier est également observé pour les deux autres composés H et T évalué à 29 % et 67 %, respectivement.

En conclusion, la technique MO/C ne permet pas d'extraire les composés fortement lipophiles non volatils H et T, mais atteint un bon rendement pour le FG, molécule plus hydrophile ce qui n'est que peu surprenant contenu du fait que l'extraction est réalisée sans solvant organique. L'extraction MO/C à 2 068 G et 2 W/g conduit à un rendement relatif de 68 % concernant le FG par rapport à l'extraction par solvant, ce qui est un résultat prometteur car le pilote peut encore être optimisé. Par ailleurs, l'influence de l'effet centrifuge est positive pour l'extraction des trois composés phénoliques considérés. Ces résultats sont en cohérence avec ceux de l'étude précédente sur la salade.

VI.5.2.3 Hypothèses sur l'influence des phénomènes mis en jeu lors de l'extraction MO/C sur la quantité de composés phénoliques

La variabilité sur les teneurs en composés phénoliques peut être expliquée par des phénomènes d'oxydation comme déjà observés sur les extraits de salade (Angoy et al., 2018), par la température et le temps d'extraction. En effet, certains composés phénoliques sont thermosensibles et donc ne peuvent supporter une longue exposition à de hautes températures apparaissant lors de l'application d'une forte densité de puissance micro-ondes associée à une injection de vapeur d'eau en continu durant toute l'extraction. Le rôle de l'effet centrifuge serait donc de permettre une séparation solide/liquide plus efficace et donc un temps d'exposition au champ électromagnétique réduit tout en limitant la montée en température dans la machine par la circulation d'air induite à des effets centrifuges élevés (> 1 610 G, *i.e.* 3 000 tr/min). Pour cela, des mesures de températures de la matrice végétale pendant 20 min au cours de l'extraction à l'aide de thermo-boutons ont été effectuées. Deux extractions (courbes MO/C) sont réalisées à 2,4 W/g et à deux effets centrifuges distincts : 216 G et 2 318 G (*i.e.* 1 100 et 3 600 tr/min). Elles sont comparées à deux autres extractions (courbes Centrifugation) en l'absence d'application de micro-ondes mais avec les deux effets centrifuges appliqués 216 G et 2 318 G. Chaque extraction a été réalisée avec injection de vapeur d'eau et en triplicat (Figure VI.10).

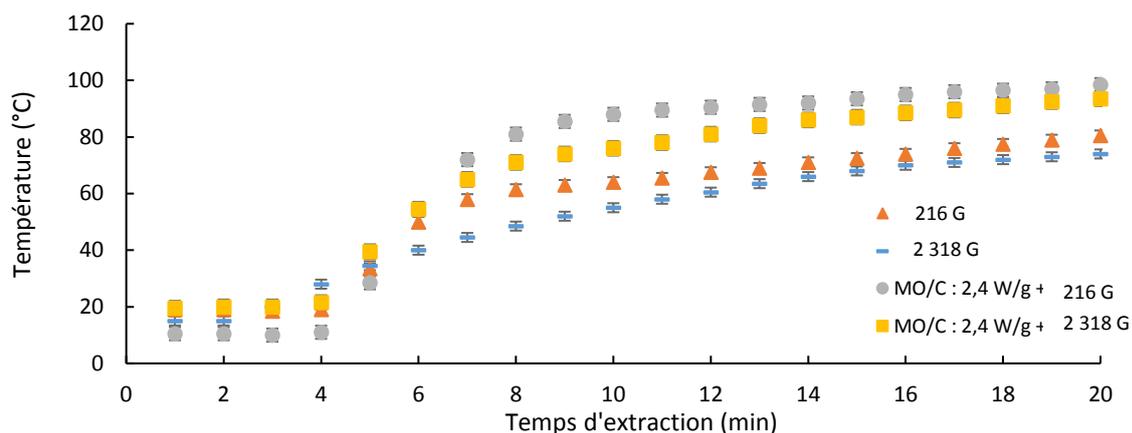


Figure VI.10 : Evolution de la température au sein de la matrice végétale lors d'extraction MO/C à 2,4 W/g et 216 G (gris), 2 318 G (jaune) et lors de centrifugation à 216 G (orange) et 2 318 G (bleu) (écorces d'oranges).

L'évolution de température est similaire pour les différentes expériences mais les valeurs conduisant au niveau de température le plus élevé sont obtenues lors de l'application de micro-ondes à 2,4 W/g et d'un faible effet centrifuge de 216 G, avec des températures moyennes se situant entre 95°C et 110°C au lieu de 85°C et 95°C pour un effet centrifuge de 2 318 G. En absence de champ micro-ondes, les températures se situent entre 80°C et 90°C pour un faible effet centrifuge et entre 70 °C et 80°C pour un effet centrifuge élevé. Plus l'effet centrifuge est élevé, moins la température de la matrice végétale est importante.

Comme cela a été souligné précédemment, l'effet centrifuge contribue aux échanges thermiques, que ce soit en induisant un renouvellement d'air dans la machine ou en intensifiant les pertes thermiques et permet également de réduire le temps d'exposition de l'extrait à la température globale du système grâce à un drainage du liquide efficace. L'extraction des huiles essentielles est favorisée par une température d'extraction élevée, cela explique donc que les paramètres optimisés pour MO/C font référence à un faible effet centrifuge 196 G. En revanche, les composés phénoliques susceptibles d'être affectés par une température élevée nécessiteraient une vitesse de rotation élevée (> à 1 610 G, 3 000 tr/min) pour que l'extraction soit conduite dans une ambiance à température plus faible et que le liquide quitte le plus rapidement possible le système.

Pendant l'extraction MO/C, les micro-ondes font exploser les cellules végétales grâce à une élévation rapide de la température. Dans un même temps, l'effet centrifuge en refroidissant le système protégerait les molécules thermosensibles extraites de la cellule. Deuxièmement,

il intensifierait la séparation liquide/solide par drainage efficace et limiterait, ainsi, le temps d'exposition des molécules au champ électromagnétique. Il existe donc une complémentarité entre ces deux paramètres.

VI.6 Etude structurale par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

Des observations au microscope électronique à balayage ont été réalisées sur les écorces d'oranges afin de compléter les analyses chimiques effectuées. Les échantillons collectés après avoir été soumis à différentes techniques d'extraction sont observés pour mettre en évidence l'impact des paramètres physiques sur la structure cellulaire. Les techniques d'extractions étudiées sont la centrifugation, les micro-ondes, les micro-ondes couplées à la centrifugation et l'hydrodistillation.

VI.6.1 Structure cellulaire des écorces d'oranges

La structure d'une écorce d'orange est détaillée en Figure VI.11, grâce à une représentation schématique et une photographie couleur montrant les différentes zones et cellules de l'écorce avec (1) les glandes sécrétrices d'huiles essentielles, (2) le flavédo de couleur orange, (3) l'albédo de couleur blanche et (4) l'épiderme constitué de cellules spécifiques.

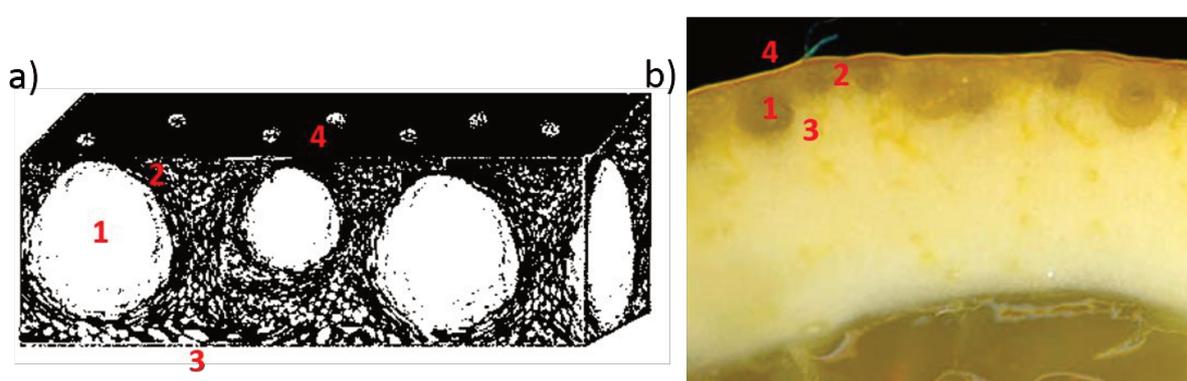


Figure VI.11 : a) Représentation schématique d'une lamelle d'écorce d'orange (x70). 1 : glandes sécrétrices; 2 : flavédo; 3: albédo; 4 : épiderme ; b) photographie d'une lamelle d'écorce d'orange.

L'examen macroscopique (70X) montre que les écorces d'oranges sont composées de plusieurs tissus distincts. Les structures prédominantes sont les glandes sécrétrices d'huiles essentielles (1) qui apparaissent dans les coupes de tissu comme un grand espace creux entouré d'une fine paroi (Matas et al., 2010). Ces glandes huileuses (GH) couvrent une région allant de la surface supérieure du fruit jusqu'à l'albédo, un tissu qui se caractérise par de nombreux espaces aériens intercellulaires et une apparence blanche. Par contre, le flavédo est composé de parenchymes (P) riches en chromoplastes qui contribuent à la couleur orange typique des agrumes. Enfin, l'épiderme est formé d'une seule couche continue de cellules coniques (CC) recouvertes par une cuticule hydrophile sur la paroi périnclinale externe.

VI.6.2 Impact de différentes techniques d'extraction sur la structure cellulaire de l'écorce d'orange

De nombreux échantillons d'écorces d'oranges ont été sélectionnés aléatoirement après plusieurs expériences réalisées selon différentes techniques d'extraction. Ces échantillons ont été observés selon différents plans de coupe (épiderme de l'orange, lamelle et profil) et de rupture au microscope électronique à balayage (MEB) (Figure VI.12).

Les photographies de l'écorce sans traitement d'extraction (Figure VI.12a) permettent de visualiser les différentes structures. L'épiderme de l'orange apparaît sans aucune fissure, les GH sont organisées de façon complexe avec des films de cellules très fines dans le fond de la cavité où des gouttes d'huiles essentielles sont visibles et les P près de la GH sont très aérées.

Des images présentant les effets des différents traitements sont observées (Figure VI.12) : b) centrifugation 200 G, c) micro-ondes 2 W/g, d) micro-ondes et centrifugation 200 G et 2 W/g, et e) hydrodistillation. Après centrifugation, l'épiderme de l'orange présente des fissures, les cellules de la région de l'albédo sont comprimées, tassées et les GH sont lisses et ovales avec des gouttes d'huiles essentielles encore apparentes (VI.12b). La structure des écorces soumises aux micro-ondes (VI.12c) est hétérogène avec une alternance de zones de cellules aérées et comprimées. L'échantillon étudié est globalement déstructuré : les GH sont sphériques, très profondes et non lisses, l'épiderme plissé et les P tassées.

En ce qui concerne la technique MO/C (VI.12d), l'épiderme présente des fissures et est plissé, les GH sont en forme de poires et la zone de l'albédo est comprimée et compactée. Pour

l'extraction conventionnelle, l'hydrodistillation (VI.12e), l'épiderme n'est pas plan et montre des reliefs avec des fissures, les GH sont allongées et la fine couche de cellules la constituant semble se désolidariser.

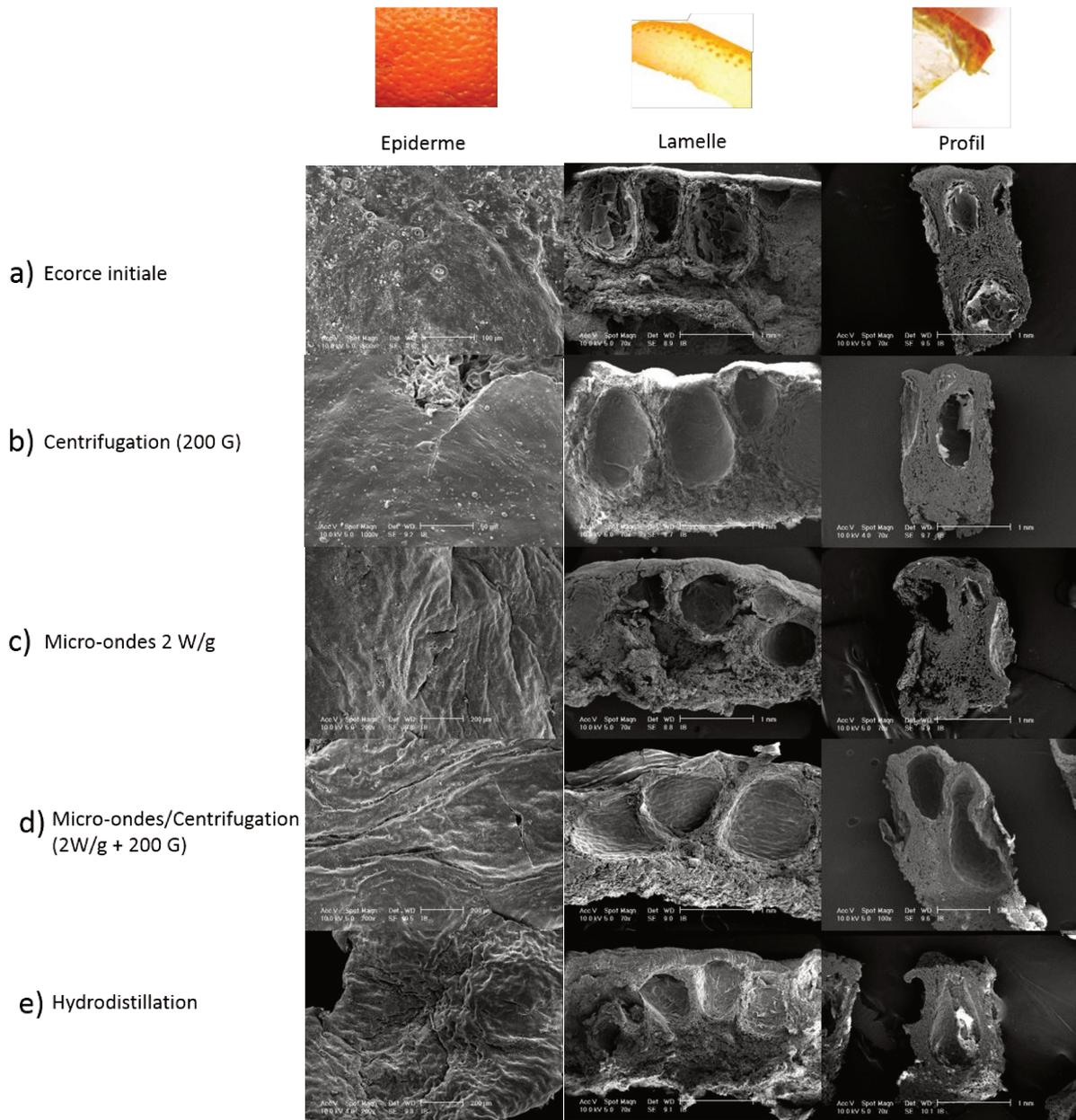


Figure VI.12 : Observations MEB de l'épiderme, la lamelle et le profil d'écorces d'oranges selon : a) sans traitement ; b) Centrifugation (200 G) ; c) Micro-ondes (2 W/g) ; d) Micro-ondes/Centrifugation (2 W/g et 200 G) ; e) Hydrodistillation.

De nombreux changements structurels, notamment au niveau des GH contenant les huiles essentielles, ont été observés en fonction des traitements appliqués comparés aux écorces

d'oranges non traitées. Ces observations aident à la compréhension du mécanisme d'extraction MO/C et vont pouvoir servir de base à une modélisation des phénomènes.

VI.7 Mécanisme d'extraction

Grâce aux observations MEB et à l'interprétation des résultats, un mécanisme à l'échelle cellulaire de l'extraction MO/C des molécules d'intérêt de l'écorce d'orange peut être proposé (Figure VI.13).

Dans les écorces d'oranges, deux types de cellules bien distinctes sont présentes : les glandes sécrétrices renfermant les huiles essentielles et les cellules contenant des composés phénoliques. Les huiles essentielles, globalement, ne s'échauffent pas par micro-ondes car elles sont constituées à plus de 90 % de limonène (Farhat et al., 2011; Sahraoui et al., 2011) qui ne présente pas de moment dipolaire. Mais l'utilisation des micro-ondes facilite la libération de ce type de molécules par rapport au chauffage traditionnel en provoquant l'augmentation de la température de l'eau « *in situ* » de la matrice végétale.

Une possible explication serait que les micro-ondes agissent sur toutes les cellules qui entourent les glandes d'huiles essentielles car elles contiennent principalement de l'eau. Ces cellules montent en température (100°C) et en pression puis explosent en libérant leur contenu. Elles exerceraient une pression sur les glandes d'huiles essentielles qui prennent alors une forme sphérique sous ces contraintes et explosent à leur tour (Figure VI.13). Les huiles essentielles diffuseraient de l'intérieur vers l'extérieur de la matrice végétale. L'eau libérée sous forme vapeur formerait un azéotrope avec les molécules aromatiques contenues dans les huiles essentielles (terpènes, composés oxygénés, etc). L'injection de vapeur d'eau supplémentaire favoriserait la formation de l'azéotrope lors de l'extraction et donc l'extraction des huiles essentielles.

Simultanément, l'application de la force centrifuge permettrait d'exercer une pression sur les écorces d'oranges favorisant le compactage global de la matrice végétale. Elle contribuerait à intensifier la séparation solide-liquide et à augmenter le rendement d'extraction en drainant le mélange liquide-vapeur hors de la matrice végétale puis hors du système. Cela permettrait également d'homogénéiser le champ électromagnétique et d'éviter ainsi les points chauds. Plusieurs publications ont montré que l'application d'une force centrifuge peut endommager

les cellules végétales en atteignant les chloroplastes et/ou les membranes (Kato et al., 2018; Peterson et al., 2012). Ces dommages cellulaires observés dépendraient à la fois du temps et de l'accélération appliquée aux cellules, pour une vitesse utilisée supérieure à 600 G (Molina-Miras et al., 2018).

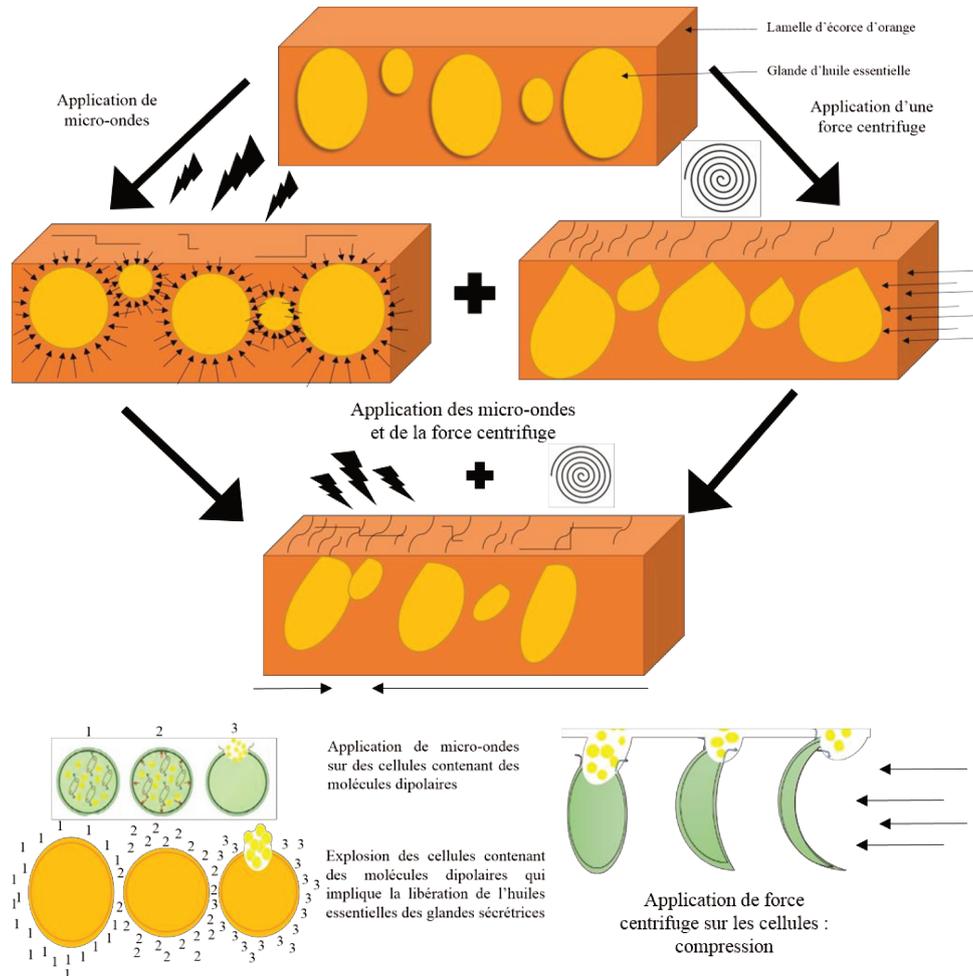


Figure VI.13 : Hypothèses sur les mécanismes conduisant à l'extraction des huiles essentielles des écorces d'oranges par MO/C.

Lors de l'extraction par micro-ondes en absence de solvant, l'obtention d'un rendement optimal en huiles essentielles dépend de l'équilibre entre trois paramètres : la puissance micro-ondes, le temps d'irradiation et le taux d'humidité de la matrice végétale utilisé qui doit être compris entre 20 et 100 % (Singh Chouhan et al., 2019). Une irradiation par micro-ondes à forte puissance permet la libération des huiles essentielles mais peut également dégrader les molécules d'intérêts. Une faible densité de puissance micro-ondes ne suffit pas à faire

éclater les glandes d'huiles essentielles mais facilite la diffusion de ces dernières de l'intérieur de la matrice végétale vers l'extérieur. Un compromis utilisant par alternance une forte densité de puissance micro-ondes durant une courte période pour exploser les cellules suivie d'une faible densité de puissance micro-ondes pour faciliter la diffusion permettrait probablement d'obtenir de meilleur rendement.

VI.8 Conclusion générale et perspectives

Le pilote, a été adapté pour extraire les huiles essentielles des écorces d'oranges, *citrus sinensis* L., ce qui permet de valoriser cette matrice végétale. L'injection de vapeur d'eau permet d'améliorer le rendement en huiles essentielles. Le plan d'expérience a permis de montrer qu'une densité de puissance micro-ondes importante (2,4 W/g) et un faible effet centrifuge (196 G, *i.e.* 1 046 tr/min) pendant 30 minutes étaient nécessaires pour obtenir un rendement optimisé en huiles essentielles. Cela peut s'expliquer par le fait qu'il faut une température élevée à l'intérieur du pilote pour que l'extraction des huiles essentielles ait lieu tout en limitant les fuites de vapeurs. A faible effet centrifuge (196 G), la circulation d'air dans le pilote est limitée et induit un refroidissement du système plus faible qu'à 2 862 G (*i.e.* 4 000 tr/min).

Concernant les compositions en huiles essentielles, les mêmes composés sont obtenus suivant les deux techniques d'extraction : extraction MO/C et hydrodistillation. L'extraction MO/C permet d'atteindre 60 % de rendement en huiles essentielles par rapport à l'hydrodistillation en seulement 30 minutes contre deux heures. Quantitativement, l'octanal, le décanal, le gèranial et le linalool, quatre principaux composés participant à l'arôme original de l'huile essentielle d'écorce d'orange, présentent des quantités légèrement plus élevées pour la technique MO/C que celles obtenues en hydrodistillation. Cela met en évidence la bonne qualité d'huile essentielle par cette méthode.

De plus, deux phases sont obtenues dans l'extrait collecté qui correspondent à deux types de molécules bien distinctes : les huiles essentielles pour la phase apolaire et des molécules non volatiles pour la phase aqueuse avec notamment la présence de composés phénoliques. L'identification des molécules présentes dans la phase aqueuse a été effectuée à des longueurs d'onde correspondant à des classes de composés phénoliques à savoir : 280 nm,

330 nm et 360 nm. Quatre classes différentes ont été observées : les acides hydroxycinnamiques, les flavonols, les flavanones glycosylées et les flavones. Par rapport à l'extraction de référence (extraction par solvant) les mêmes composés sont retrouvés mais en quantités différentes. En effet, le pilote permet d'extraire les molécules les plus hydrophiles comme les acides hydroxycinnamiques mais très peu les flavonols, flavanones et flavones très apolaires. L'héspéridine, composé majoritaire retrouvé dans les extraits d'écorces d'oranges par solvant, n'est collectée qu'à l'état de traces lors de l'extraction MO/C.

Pour les composés phénoliques, l'influence de la densité de puissance micro-ondes et de l'effet centrifuge pendant l'extraction MO/C a également été étudiée. Il semblerait que plus la densité de puissance micro-ondes est importante, moins de composés phénoliques sont récupérés. Une hypothèse serait qu'ils sont sensibles à haute température. Concernant l'effet centrifuge, ce dernier doit être élevé pour obtenir un rendement important. Ces observations pourraient s'expliquer par le fait qu'un effet centrifuge élevé induit un refroidissement de la matrice végétale et permet également un drainage efficace du liquide. Il intensifie la séparation liquide/solide au cours de l'extraction MO/C. Ainsi, le liquide est donc moins en contact avec un environnement à une température élevée et ne risque pas de subir une nouvelle fois le chauffage micro-ondes. Cela met en évidence que l'aérodynamique du pilote et la distribution du champ de température impacte l'extraction des molécules en fonction de leur propriétés (thermosensibles, caractère hydrophile et lipophile...).

Enfin, l'effet centrifuge permet d'homogénéiser les ondes électromagnétiques et d'intensifier l'épuisement de la matrice végétale en molécules d'intérêt. De plus, le procédé offre un gain de temps et permet l'extraction de composés volatils et non volatils (composés phénoliques) en une seule expérience sans utilisation de solvant organique.

Dans l'optique de mieux comprendre l'influence de chaque paramètre mécanique et thermique ainsi que leurs interactions sur la matrice végétale, une première démarche de modélisation sur les mécanismes physiques mis en jeu au cours de l'extraction MO/C est en développement.

VI.9 Références

- Anagnostopoulou, M.A., Kefalas, P., 2012. Bioflavonoid profile of citrus juices from Greece. *Biomed. Chromatogr.* 26, 1252–1268.
- Angoy, A., Valat, M., Ginisty, P., Sommier, A., Goupy, P., Caris-Veyrat, C., Chemat, F., 2018. Development of microwave-assisted dynamic extraction by combination with centrifugal force for polyphenols extraction from lettuce. *LWT* 98, 283–290.
- Borah, N., Gunawardana, S., Torres, H., McDonnell, S., Van Slambrouck, S., 2017. 5, 6, 7, 3', 4', 5'-Hexamethoxyflavone inhibits growth of triple-negative breast cancer cells via suppression of MAPK and Akt signaling pathways and arresting cell cycle. *Int. J. Oncol.* 51, 1685–1693.
- Chemat, F., Lucchesi, M.E., Smadja, J., Favretto, L., Colnaghi, G., Visinoni, F., 2006. Microwave accelerated steam distillation of essential oil from lavender: A rapid, clean and environmentally friendly approach. *Anal. Chim. Acta* 555, 157–160.
- Chisholm, M.G., Jell, J.A., Cass Jr, D.M., 2003. Characterization of the major odorants found in the peel oil of *Citrus reticulata* Blanco cv. Clementine using gas chromatography–olfactometry. *Flavour Fragr. J.* 18, 275–281.
- Del Bosco, S.F., Abbate, L., Tusa, N., Strano, T., Renda, A., Ruberto, G., 2013. Genetic improvement of Citrus fruits: The essential oil profiles in a Citrus limon backcross progeny derived from somatic hybridization. *Food Res. Int.* 50, 344–350.
- Farhat, A., 2010. Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Université d'Avignon.
- Farhat, A., Fabiano-Tixier, A.-S., El Maataoui, M., Maingonnat, J.-F., Romdhane, M., Chemat, F., 2011. Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: kinetic data, extract's global yield and mechanism. *Food Chem.* 125, 255–261.
- Ferhat, M.A., Meklati, B.Y., Chemat, F., 2007. Comparison of different isolation methods of essential oil from Citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. *Flavour Fragr. J.* 22, 494–504.
- Filly, A., Fabiano-Tixier, A.S., Louis, C., Fernandez, X., Chemat, F., 2016. Water as a green solvent combined with different techniques for extraction of essential oil from lavender flowers. *Comptes Rendus Chim.* 19, 707–717.

- Högnadóttir, Á., Rouseff, R.L., 2003. Identification of aroma active compounds in orange essence oil using gas chromatography–olfactometry and gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 998, 201–211.
- Kato, N., Lum, T., Légeret, B., Li-Beisson, Y., Ndathe, R., 2018. Centrifugation-induced production of triacylglycerols in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Bioresour. Technol. Rep.*
- Matas, A.J., Agustí, J., Tadeo, F.R., Talón, M., Rose, J.K.C., 2010. Tissue-specific transcriptome profiling of the citrus fruit epidermis and subepidermis using laser capture microdissection. *J. Exp. Bot.* 61, 3321–3330.
- M'hiri, N., Ioannou, I., Ghoul, M., Boudhrioua, N.M., 2015. Proximate chemical composition of orange peel and variation of phenols and antioxidant activity during convective air drying. *J. New Sci.*
- Molina-Miras, A., Sánchez-Mirón, A., García-Camacho, F., Molina-Grima, E., 2018. CFD-aided optimization of a laboratory-scale centrifugation for a shear-sensitive insect cell line. *Food Bioprod. Process.* 107, 113–120.
- Paré, J.R.J., Bélanger, J.M., 1997. *Instrumental methods in food analysis*. Elsevier.
- Parker, T.D., Adams, D.A., Zhou, K., Harris, M., Yu, L., 2003. Fatty Acid Composition and Oxidative Stability of Cold-pressed Edible Seed Oils. *J. Food Sci.* 68, 1240–1243.
- Périno-Issartier, S., Ginies, C., Cravotto, G., Chemat, F., 2013. A comparison of essential oils obtained from lavandin via different extraction processes: ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, steam and hydrodistillation. *J. Chromatogr. A* 1305, 41–47.
- Peterson, B.W., Sharma, P.K., van der Mei, H.C., Busscher, H.J., 2012. Bacterial Cell Surface Damage Due to Centrifugal Compaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 120–125.
- Plotto, A., Margaría, C.A., Goodner, K.L., Goodrich, R., Baldwin, E.A., 2004. Odour and flavour thresholds for key aroma components in an orange juice matrix: terpenes and aldehydes: Odour/Flavour. Thresholds for terpenes and aldehydes. *Flavour Fragr. J.* 19, 491–498.
- Risch, B., Herrmann, K., Wray, V., 1988. (E)-Op-Coumaroyl-,(E)-O-Feruloyl-derivatives of glucaric acid in citrus. *Phytochemistry* 27, 3327–3329.
- Rodríguez-Rivera, M.P., Lugo-Cervantes, E., Winterhalter, P., Jerz, G., 2014. Metabolite profiling of polyphenols in peels of *Citrus limetta* Risso by combination of preparative high-speed countercurrent chromatography and LC–ESI–MS/MS. *Food Chem.* 158, 139–152.

Sahraoui, N., Vian, M.A., El Maataoui, M., Boutekedjiret, C., Chemat, F., 2011. Valorization of citrus by-products using Microwave Steam Distillation (MSD). *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 12, 163–170.

Singh Chouhan, K.B., Tandey, R., Sen, K.K., Mehta, R., Mandal, V., 2019. Critical analysis of microwave hydrodiffusion and gravity as a green tool for extraction of essential oils: Time to replace traditional distillation. *Trends Food Sci. Technol.* 92, 12–21.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Depuis quelques années, le domaine de l'extraction végétale est en pleine mutation, avec à la fois des préoccupations environnementales réelles combinées à un intérêt croissant des consommateurs pour des ingrédients d'origine naturelle et sans trace de produits toxiques. Il apparaît dès lors indispensable de remplacer les procédés actuels énergivores et utilisant des solvants pétrochimiques nocifs par de nouveaux procédés d'extraction réduisant le temps d'extraction et la consommation énergétique, limitant l'utilisation de solvant et valorisant des coproduits issus de biodéchets tout en assurant l'obtention d'un extrait de qualité et à haut rendement. Dans ce contexte, l'enjeu principal de ce travail de thèse était d'évaluer l'apport d'une centrifugation lors d'une extraction assistée par micro-ondes, sans solvant, à l'aide d'un pilote existant développé initialement pour des applications de séchage de suspensions minérales et de bobines textiles. Les principaux objectifs pour mener à bien ce projet ont alors été d'adapter et de modifier le dispositif existant pour le domaine de l'extraction végétale ; de sélectionner les matrices végétales pour réaliser les premières campagnes expérimentales ; d'évaluer l'intérêt du nouveau procédé dans le domaine de l'extraction et l'apport de l'effet centrifuge par rapport à des méthodes conventionnelles et par micro-ondes classiques ; d'étudier les mécanismes physiques mis en jeu lors de l'extraction ; d'initier une première démarche en modélisation; d'identifier les marchés porteurs pour le procédé développé et de proposer des axes d'amélioration et d'optimisation de ce dispositif.

Afin d'apporter des éléments de réponse à ces différents aspects, cette thèse a été bâtie autour de trois axes principaux : la présentation de l'état de l'art sur les micro-ondes et leur utilisation dans l'agroalimentaire et dans l'extraction végétale, l'adaptation et la modification d'un pilote existant pour le domaine de l'extraction, puis son utilisation pour évaluer le potentiel du couplage thermique/mécanique pour l'extraction de produits naturels à partir de matrices végétales « modèles ».

En premier lieu, le Chapitre I a présenté une étude bibliographique sur les micro-ondes et leurs utilisations dans l'industrie agroalimentaire et pour l'extraction du végétal. Cette étude a permis d'identifier les différentes techniques d'extraction par micro-ondes déjà disponibles dans des laboratoires puis à des échelles semi-industrielles et industrielles. Elle a permis également de connaître les techniques couplées avec des ultrasons, un vide poussé, etc et utilisant des solvants ou s'aidant de la gravité pour récupérer l'extrait. Cela a permis de conforter notre choix de développer un nouveau procédé d'extraction par micro-ondes

combiné à la centrifugation à l'échelle semi-industrielle qui pourrait présenter des avantages en termes de rendement, d'énergie et de temps d'extraction. De plus, l'étude des recherches déjà menées sur le sujet ont mis en avant plusieurs marchés potentiels pour l'extraction par micro-ondes : les huiles essentielles, les micronutriments, les jus de fruits et les arômes. Enfin, ce travail a permis de mieux appréhender en quoi l'utilisation des micro-ondes, bien qu'elles soient réglementées et qu'elles génèrent des idées reçues en matière de dégradation moléculaires néfastes, permet également d'obtenir des produits de meilleure qualité et de façon plus respectueuse de l'environnement.

Le Chapitre II a décrit le pilote combinant micro-ondes et centrifugation déjà existant en commençant par ses différentes phases de développement ainsi que tous ses aspects physiques relatifs à l'application d'un champ électromagnétique et d'un effet centrifuge jusqu'à 2 862 G (*i.e.* 4 000 tr/min). L'adaptation et la modification de cet appareil ont permis d'effectuer des premières séries d'essais d'extraction à l'échelle semi-industrielle à l'aide de matrices végétales sélectionnées. Le chapitre III a fait références aux matrices végétales utilisées pour notre étude et a présenté certains de leurs métabolites secondaires avec leurs particularités.

Le chapitre IV a rassemblé l'ensemble des protocoles d'extractions et d'analyses employés tout au long de ce travail de thèse.

La première partie de ce travail expérimental de thèse (Chapitre V) a porté, dans un premier temps, sur l'adaptation et la modification d'un pilote initialement conçu pour le séchage de suspensions minérales et de produits textiles pour extraire des composés phénoliques de la salade. Cette extraction a été réalisée sans ajout de solvant, seulement avec l'eau *in-situ* de la plante, en travaillant directement avec la matrice végétale fraîche. Le travail réalisé a permis de montrer que l'extraction de micronutriments (composés non volatils) par micro-ondes combinés à la centrifugation (3 800 tr/min, *i.e.* 2 583 G) est possible. Elle offre des avantages nets en termes de rendement et de sélectivité, avec un meilleur temps d'extraction, une teneur en polyphénols élevée tout en étant respectueuse de l'environnement comparée à une extraction assistée par micro-ondes et à faible vitesse de rotation (400 tr/min, *i.e.* 29 G). D'un point de vue quantitatif, le pilote permet d'extraire plus de 49 % des composés phénoliques totaux par rapport à une extraction de référence. Ce rendement est élevé comparé aux travaux de Périno (Périno et al., 2016) où le rendement obtenu est de 3 % pour une extraction

par MHG et de 6 % pour le MAC-75, pilote MHG à l'échelle industrielle qui dispose d'une rotation. Enfin, l'extraction avec le pilote permet un gain énergétique car l'ajout de la force centrifuge offre la possibilité d'utiliser en combinaison une densité de puissance micro-ondes plus basse que celle normalement utilisée avec des micro-ondes seules.

La deuxième partie de ce travail de thèse (Chapitre VI), a porté sur l'étude de l'extraction de composés volatils, les huiles essentielles à partir d'écorces d'oranges. L'injection de vapeurs d'eau au cours de l'extraction a permis d'améliorer le rendement en huiles essentielles récupérées. Les paramètres optimums d'extraction ont été évalués à une densité de puissance micro-ondes importante de 2,4 W/g et un faible effet centrifuge de 196 G (*i.e.* 1 046 tr/min) pendant 30 minutes. L'extraction MO/C permet d'atteindre 60 % de rendement en huiles essentielles par rapport à l'hydrodistillation en seulement 30 minutes contre deux heures avec une composition quantitativement identique et avec des proportions légèrement plus élevées en composés mettant en évidence une bonne qualité d'extrait. De plus, dans la phase aqueuse de l'extrait, des composés phénoliques polaires sont également obtenus pendant l'extraction. Pour ces composés, les paramètres d'extraction optimisés sont définis par une densité de puissance micro-ondes modérée pour éviter toute dégradation thermique des molécules et un effet centrifuge élevé (2 583 G, *i.e.* 3 800 tr/min) pour obtenir un rendement important.

En résumé ces travaux ont permis de montrer que l'extraction solide-liquide assistée par micro-ondes combinée à la centrifugation est faisable sans utilisation de solvant pour extraire les molécules volatiles (huiles essentielles) et non-volatiles (composés phénoliques hydrophiles) de matrices végétales fraîches (plus de 70% d'eau). De plus, cette nouvelle technique d'extraction est une alternative en comparaison à des extractions conventionnelles comme l'hydrodistillation pour collecter des huiles essentielles avec des gains de temps d'extraction notables. Ses avantages principaux reposent sur une intensification de la séparation solide-liquide et une homogénéisation du champ électromagnétique limitant ainsi l'apparition de points chauds.

Les limitations de cette nouvelle technique sont qu'en l'absence de solvant, elle ne permet pas d'extraire des molécules lipophiles non volatiles. Par ailleurs, des phénomènes d'oxydation d'origine enzymatique ou non peuvent se produire aléatoirement du fait de la présence en continu de dioxygène au cours de l'extraction, cela peut affecter la qualité de l'extrait. De plus, le panier utilisé dans le pilote est en métal ce qui atténue le champ

électromagnétique au niveau de ses parois et limite donc l'homogénéité du chauffage. Et enfin, les paramètres du système à l'échelle semi-industrielle ne sont pas encore totalement maîtrisés, notamment l'influence de l'aéroulque et il doit encore être investigué.

Des campagnes d'essais sur des produits à visée industrielle se sont déroulées pour connaître les potentialités du pilote et généraliser les résultats à d'autres matrices végétales. Les résultats des différentes extractions sont confidentiels, mais sont prometteurs d'autant plus que le pilote peut encore être optimisé.

Ensuite, dans l'optique d'obtenir une meilleure compréhension des mécanismes physiques régissant l'extraction de molécules volatiles et non volatiles, assistée par micro-ondes couplée à la centrifugation à partir de matrices végétales, une première démarche vers une modélisation à l'échelle cellulaire a été initiée en fin de thèse. La première étape a consisté à s'intéresser au comportement de la cellule végétale lorsqu'elle est soumise au chauffage par micro-ondes. L'objectif a été de construire un modèle décrivant l'évolution de la pression interne de la cellule en fonction de la température en prenant en compte le comportement viscoélastique de la paroi membranaire. La définition d'une contrainte critique permet alors de déterminer le seuil de rupture de la cellule. De nombreuses recherches bibliographiques ont été effectuées pour trouver une relation permettant de traduire l'augmentation du volume cellulaire sous contrainte. Lockhart (1965) a établi un modèle biophysique de l'expansion cellulaire prenant en compte les aspects hydraulique et mécanique. Le modèle de Lockhart a été initialement développé pour décrire la croissance cellulaire. Il prend en compte les effets osmotiques ainsi que les effets de turgescence. Le comportement mécanique de paroi cellulaire est décrit par un modèle de Maxwell qui confère à la cellule la propriété de croître en volume. La modification de Lockhart apportée permet de prendre en compte l'effet de l'élévation de température sur la masse volumique du liquide intracellulaire y compris le changement de phase. Comme attendu, lorsque la température d'ébullition est atteinte, la pression interne croît dramatiquement, ce qui doit prélude à la rupture de la paroi cellulaire. Les tests de validation du modèle sont en cours ainsi que son extension pour prendre en compte l'effet mécanique lié à la compression centrifuge des tissus.

La résolution permet de lier le comportement de la paroi cellulaire que ce soit en réponse à une contrainte mécanique ou à une sollicitation thermique.

Les prochaines étapes de la modélisation seraient de considérer l'échelle de « l'élément » de la matrice végétale comme la feuille de salade, une lamelle d'écorce d'orange, pour décrire la diffusion du liquide dans le tissu puis, agrandir l'échelle au gâteau de la matrice végétale. Ainsi, l'effet d'essorage du liquide extrait sous l'effet de la force centrifuge permettrait de prendre en compte l'ensemble des processus mis en jeu pendant l'extraction. La question de la validation du modèle et de la détermination des paramètres d'entrée se posera alors de façon aiguë. Malheureusement, cela n'a pas pu être concrétisé au cours de cette thèse par manque de temps.

Enfin, l'extraction assistée par micro-ondes couplée à la centrifugation apparaît comme une combinaison synergique d'un effet thermique (chauffage par micro-ondes) et d'un effet mécanique (force centrifuge). Des études technico-économiques doivent encore être réalisées pour évaluer le procédé, il serait intéressant de travailler avec les déchets issus de la production de salade pour les valoriser en coproduits. La compréhension, à l'échelle micro et macro du couplage, pertinente pour les techniques combinées, n'a pas encore atteint le degré de maturité technique nécessaire. Parvenir à une parfaite maîtrise de la combinaison représentait un véritable défi qui s'est avéré quelque peu ambitieux dans le temps imparti pour ce travail de thèse. De plus, la compréhension des mécanismes intimement liés à la structure biologique du produit et la prise en compte des effets thermiques et mécaniques sur des matériaux aussi complexes nécessiterait une approche multidisciplinaire. Pour autant, une porte est ouverte sur le développement de techniques hybrides qui initiera de nouvelles applications dans l'extraction d'aliments et de produits naturels.

Les différents résultats de cette thèse soulèvent des questions qui pourraient faire l'objet de futures recherches comme de :

- tester une nouvelle configuration type « Solvent Free Microwave Extraction », c'est-à-dire recueillir les vapeurs par le haut du pilote ce qui pourrait améliorer le rendement en molécules volatiles,
- développer un modèle complet décrivant les phénomènes d'extraction aux différentes échelles en intégrant les propriétés de la matrice végétale,
- réaliser des extractions solide-liquide avec des solvants verts : agrosourcés, NaDES (liquides ioniques naturels), etc,

- réaliser des extractions liquide/liquide, et
- développer un mode de purification de substances naturelles en utilisant deux phases liquides non miscibles et un champ d'accélération centrifuge.

Liste des Figures et Tableaux

LISTE DES FIGURES

Figure 0.1 : Partenaires académiques et industriels impliqués dans la thèse	18
Figure 0.2 : Objectifs du projet de thèse.....	19
Figure I.1 : Plane EMW propagating in the z direction and polarized in the y direction. EMW, Electromagnetic wave.	26
Figure I.2 : Electromagnetic spectrum.	27
Figure I.3: Plane wave propagating in the air and striking a plane surface: (Case 1) non-lossy dielectric material, (Case 2) lossy dielectric material, and (Case 3) conducting material.	29
Figure I.4: Evolution of dielectric permittivity and factor loss as a function of frequency.....	30
Figure I.5: Internal gaseous pressures for different drying cases of pinewood (a) convective drying, (b) and (c) microwave drying with 5 and 10 kW/m ² incident power, respectively (Turner et al., 1998).....	43
Figure II.1 : Dispositif expérimental en version déshydratation par essorage/micro-ondes : vue d'ensemble et représentation schématique (Apaolaza, 2014).....	76
Figure II.2 : Différentes phases du développement du pilote essorage/micro-ondes au cours des travaux de deux thèses réalisées à l'IFTS.....	77
Figure II.3 : Essoreuse semi-industrielle Robatel : a) vue de la machine dans sa version initiale ; b) représentation en 3D du carter et du panier de la machine (Apaolaza, 2014).	78
Figure II.4 : Dispositif expérimental développé lors de la thèse de X. Apaolaza (2014) ; photographie et schéma ; (Apaolaza, 2014).	79
Figure II.5: Distribution de la pression liquide dans le gâteau pendant le drainage centrifuge (Apaolaza, 2014).....	81
Figure II.6 : Modélisation de la trajectoire du flux d'air dans la centrifugeuse en 3D et 2D, (Apaolaza ,2014).....	82
Figure II.7 : Répartition du champ électrique dans le gâteau par simulation numérique effectuée sous COMSOL Multiphysics® (Apaolaza, 2014).	84
Figure II.8 : Exemple d'échauffement diélectrique dans un gâteau en rotation et photographie du panier d'essorage (Apaolaza, 2014).....	84

Figure II.9 : Ajout d'un condenseur au pilote pour collecter la totalité de l'extrait : photo de gauche, pilote existant ; photo de droite, le condenseur en verre installé à la sortie du pilote.	90
Figure II.10 : Limitations des fuites en obstruant les entrées d'air : a) configuration ouverte - photos et schémas, entrées d'air libres ; b) configuration fermée - photos et schéma quatre entrées d'air obstruées ; c) photo de l'adhésif métallique appliqué à l'intérieur de la machine pour bloquer l'entrée d'air.....	91
Figure II.11 : Limitations de la diffusion d'odeurs dans l'atmosphère environnante du pilote : extracteur de vapeurs et condenseur métallique.....	92
Figure II.12: Schéma explicatif et photographie de l'installation d'un raccord étanche situé sur le couvercle de l'essoreuse pour l'injection de vapeur d'eau pendant l'extraction.....	93
Figure II.13 : Photographie du vase florentin en sortie du pilote pour collecter les huiles essentielles après passage dans un réfrigérant.	94
Figure II.14 : Pilote instrumenté micro-onde/centrifugation – Photos et Schéma de fonctionnement pour les extractions de molécules non volatiles : 1: Essoreuse ; 2 : générateur micro-ondes ; 3 : guide d'onde sans contact ; 4 : condenseur	96
Figure III.1 : La salade (batavia).....	98
Figure III.2 : Ecorce d'orange (Citrus Sinensis).	100
Figure III.3 : Molécules d'acides caféoylquinique et dicaféoylquinique ; d'acides caféoyltartrique et dicaféoyltartrique.	104
Figure III.4 : Molécule cyanidine – 3 - O - glucoside.....	105
Figure III.5 : La cellule végétale - Vacuoles contenant les composés phénoliques (rose) ; Cytoplasme contenant les enzymes (bleu).	107
Figure III.6 : Enantiomères du Limonène : a) R-Limonène b) S-Limonène.....	112
Figure IV.1 : SPEX miniG.	126
Figure IV.2 : Schéma d'un montage d'hydrodistillation.	127
Figure IV.3 : Pilote couplant des micro-ondes et centrifugation disponible à l'IFTS	128
Figure IV.4 : Dispositif permettant l'ouverture de l'essoreuse (schéma : Apaolaza, 2014)...	129
Figure IV.5 : Tuyaux métalliques assurant le piégeage des ondes disposés sur le couvercle de la machine (schéma : Apaolaza, 2014).....	130
Figure IV.6 : Position de l'antenne de mesure de la puissance réfléchi – Antenne (schéma : Apaolaza, 2014).....	131

Figure IV.7 : Thermo-boutons Plug & Track 22 T.	132
Figure IV.8: Schéma d'implantation des différents capteurs de température utilisés (schéma : Apaolaza, 2014).	133
Figure IV.9: Implantation générale des capteurs et des actionneurs (schéma : Apaolaza, 2014).	133
Figure IV.10 : Photos et schémas du pilote en configuration fermée (a) ou ouverte (b) (schéma : Apaolaza, 2014).	135
Figure IV.11 : a) panier d'essorage utilisé pour les extractions sur le pilote ; b) toile en polypropylène pouvant être insérée dans le panier.	135
Figure IV.12 : a) Kärcher [®] SC 1702, b) pistolet disponible une fois la brosse retirée, c) adaptation sur le pilote.	136
Figure IV.13 : Générateur de vapeur Vaporetto [®] Smart 100_B.	137
Figure IV.14 : Condenseur utilisé pendant les extractions MO/C des écorces d'oranges.	138
Figure IV.15 : Anémomètre à hélices Chauvin Arnoux 1052.	138
Figure IV.16 : Installations nécessaires pour réaliser les mesures de vitesses d'air avec l'anémomètre à hélices.	139
Figure IV.17 : Montage de l'extraction Micro-ondes combinant Hydrodiffusion et Gravité (MHG).	142
Figure V.1 : Pilote – Photos et Schéma de fonctionnement. 1 : Essoreuse ; 2 : Générateur micro-ondes ; 3 : Guide d'ondes sans contact ; 4 : Condenseur.	153
Figure V.2 : Suivi cinétique du volume extrait lors des extractions MO/C (3 800 tr/min) en bleu et MO/R (400 tr/min) en orange; 1,2 W/g, 40 min.	155
Figure V.3 : Evolution de la température moyenne de surface de la salade lors des extractions MO/C (3 800 tr/min) en bleu et MO/R (400 tr/min) en orange ; 1,2 W/g, 40 min.	156
Figure V.4 : Cinétique d'extraction des composés phénoliques totaux pour MO/C (bleu) et MO/R (orange).	157
Figure V.5 : Teneurs en composés phénoliques dans la salade avant extraction pilote (vert), dans les extraits liquides par MO/C (bleu) et par MO/R (orange) et dans la salade après extraction pilote (gris) en fonction de la vitesse de rotation appliquée.	158
Figure V.6 : Identification des composés phénoliques présents à 330 nm dans un extrait de salade obtenu par extraction MO/C et par la méthode de référence (extraction par solvant).	160

Figure V.7 : Les trois composés phénoliques sélectionnés : l'acide 3-O-Céfaoylquinique, l'acide trans-p-Coumaroyltartrique et l'acide di-Caféoyltratrique.	160
Figure V.8 : Rendement τ_{DH} de trois composés phénoliques majeurs (n°2, n°3 et n°4) pour les extraits en MO/C (bleu) et en MO/R (orange) (n=3).....	161
Figure V.9 : Application et étude des six principes de l'éco-extraction pour les procédés à l'extraction MO/C (en bleu) et l'extraction MO/R (en orange).	164
Figure V.10 : Diagramme de Pareto pour le rendement d'extraits globaux.....	167
Figure V.11 : a) Graphique des principaux effets et b) Surface de réponse estimée en fonction de la densité de puissance micro-ondes et de la vitesse de rotation.....	168
Figure V.12 : Température de paroi du réacteur en verre en fonction du temps d'extraction lors de l'extraction MHG.	172
Figure V.13 : Moyenne des températures de la surface de la salade en fonction du temps lors d'une extraction MO/C (1,15 W/g – 2 025 tr/min – 40 minutes).	173
Figure V.14 : Evolution du volume d'extrait récupéré pour différentes densités de puissance micro-ondes appliquées lors d'une extraction MHG. La valeur extractible est représentée par la ligne grise en pointillé.	174
Figure V.15 : Temps d'activation en fonction de l'inverse de la densité de puissance appliquée à la salade.	175
Figure V.16 : Volume d'extrait produit en fonction de la température pour différentes densités de puissance micro-ondes appliquées pour une extraction type MHG.	176
Figure V.17 : Volume d'extrait produit après 30 min en fonction de l'énergie appliquée à la salade.....	177
Figure V.18 : Comparaison des volumes d'extrait produits par unité de masse de matrice fraîche en fonction de la vitesse de rotation à une densité d'énergie de 0,42 Wh/g lors des extractions MO/C et MHG.....	178
Figure V.19 : Influence de la vitesse de rotation sur le volume récupéré par unité de masse de matrice fraîche (MF) en fonction de la densité d'énergie, lors des extractions MO/C et MHG.	179
Figure V.20 : a) Fractions des extraits collectés par MHG ; b) Fractions des extraits collectés par MO/C (de coloré à l'incolore).....	180
Figure V.21 : Analyse volumétrique lors de l'extraction MHG : a) salade avant extraction ; b) salade après extraction.	182

Figure V.22 : Analyse volumétrique lors de l'extraction MO/C : a) salade avant extraction ; b) salade après extraction.	182
Figure V.23 : Représentation schématique de l'évolution d'une cellule végétale lors d'une extraction MO/C.....	183
Figure VI.1 : Photos du pilote : 1)essoreuse ; 2) panier métallique ; 3) générateur micro-ondes ; 4) générateur de vapeur d'eau 5) buse d'injection de vapeur d'eau ; 6) condenseur acier ; 7) vase florentin permettant de récupérer les deux phases de l'extrait.	191
Figure VI.2 : Evolution des températures des écorces d'oranges pendant l'extraction MO/C (2,4 W/g et 179 G pour F et O1 ou 2 862 G pour O2 et O3), 30 min) en configuration fermée (F) et ouverte (O), avec ou sans (O3) injection de vapeur d'eau.	197
Figure VI.3: Diagramme de Pareto pour le rendement en huiles essentielles.	201
Figure VI.4 : Surface de réponse estimée en fonction de la densité de puissance micro-ondes (W/g) et de l'effet centrifuge (G) pour le rendement en huiles essentielles τ_{RHE} (%).	201
Figure VI.5 : Graphique des principaux effets, à droite la densité de puissance micro-ondes de 0,5 à 2,0 W/g et à gauche l'effet centrifuge de 376 à 2 068 G en fonction du rendement en huiles essentielles en %.	202
Figure VI.6 : Formation du 4-terpinéol à partir du linalol (Filly et al., 2016).	207
Figure VI.7 : Identification des composés phénoliques présents à 330 nm dans un extrait d'écorces d'oranges obtenu par : a) extraction par solvant et b) par extraction MO/C.	210
Figure VI.8 : Les trois composés phénoliques sélectionnés : le féruloyl glucarate (FG), l'héspéridine (H) et la tangéritine (T).	212
Figure VI.9 : Teneur de trois composés phénoliques ($\mu\text{g/g}$ de MF) pendant l'extraction MO/C à 1 052 G, avec injection de vapeur d'eau, temps de traitement de 30 min et densité de puissance micro-ondes de 0,19 W/g (noir), 1,25 W/g (gris foncé) et 2,3 W/g (gris).	213
Figure VI.10 : Evolution de la température au sein de la matrice végétale lors d'extraction MO/C à 2,4 W/g et 216 G (gris), 2 318 G (jaune) et lors de centrifugation à 216 G (orange) et 2 318 G (bleu) (écorces d'oranges).	216
Figure VI.11 : a) Représentation schématique d'une lamelle d'écorce d'orange (x70). 1 : glandes sécrétrices; 2 : flavédo; 3: albédo; 4 : épiderme ; b) photographie d'une lamelle d'écorce d'orange.....	217

Figure VI.12 : Observations MEB de l'épiderme, la lamelle et le profil d'écorces d'oranges selon : a) sans traitement ; b) Centrifugation (200 G) ; c) Micro-ondes (2 W/g) ; d) Micro-ondes/Centrifugation (2 W/g et 200 G) ; e) Hydrodistillation.	219
Figure VI.13 : Hypothèses sur les mécanismes conduisant à l'extraction des huiles essentielles des écorces d'oranges par MO/C.	221

LISTE DES TABLEAUX

Table I.1: Comparison of different temperature analysis systems (from (Cuccurullo et al., 2002) and (Pert et al., 2001)).	33
Table I.2: The pro and cons of microwave processes in the food industry.	34
Table I.3 : Comparison of different pasteurization and sterilization process microwave assisted.	41
Table I.4: Classification of extraction techniques and some examples of application.	52
Table I.5: Fundamental aspects of LCA evaluation of microwave (MW) processes in comparison to classical ones.	57
Table I.6: Life cycle inventory for Case Number D (see Table I.5).	58
Table I.7: Examples of industrial microwave applications.	64
Tableau III.1 : Constituants de la salade.	99
Tableau III.2 : Les principales classes et structures des squelettes des composés phénoliques (Crozier et al., 2008; Macheix et al., 2005).	103
Tableau III.3: Composition chimique d'une huile essentielle avec la classification de ses différents constituants (Baudoux et al., 2006; Staub and Bayer, 2013).	110
Tableau IV.1 : Solvants utilisés pour les extractions.	122
Tableau IV.2 : Produits utilisés pour les analyses.	123
Tableau IV.3 : Standards utilisés pour les analyses.	124
Tableau IV.4: Gradient d'élution en B (%) pour les analyses UPLC d'extraits de salade.	146
Tableau IV.5 : Gradient d'élution en B (%) pour les analyses UPLC d'extraits d'écorces d'oranges.	146
Tableau V.1 : Récapitulatif des différentes expériences d'extraction de la salade réalisées sur le pilote avec un temps d'extraction de 40 minutes et une charge de 1 kg de salade et valeurs des rendements globaux obtenus.	166
Tableau V.2 : Comparaison des valeurs expérimentale et théorique du REG pour les conditions opératoires optimales déterminées par le plan d'expériences.	169
Tableau VI.1 : Conditions expérimentales et rendements en huiles essentielles des expériences préliminaires pour déterminer les paramètres du pilote.	194
Tableau VI.2 : Conditions opératoires et rendements des pré-tests réalisés sur les écorces d'oranges en extraction MO/C (triplicat pour F).	196

Tableau VI.3 : Différentes expériences d'extraction d'écorces d'oranges réalisées sur le pilote avec injection de vapeur d'eau (4L/h), un temps d'extraction de 30 minutes et une charge de 500 g d'écorces d'oranges en fonction des deux paramètres : densité de puissance micro-ondes et effet centrifuge.....	199
Tableau VI.4: Composition chimique des huiles essentielles d'écorces de Citrus sinensis obtenues par hydrodistillation et procédés MO/C et MO/R analysés par chromatographie en phase gazeuse.	205
Tableau VI.5: Identification des composés phénoliques présents dans l'extrait d'écorces d'oranges obtenu par extraction par solvant.....	209
Tableau VI.6 : Comparaison de la teneur en composés phénoliques obtenue par l'extraction de référence et par extractions MO/C à 2 W/g et 376 ou 2 068 G, exprimée en µg/g de matière fraîche.....	214

Éco-extraction par micro-ondes couplée à un champ centrifuge

Résumé

Les préoccupations environnementales actuelles comme l'épuisement des ressources fossiles, l'émission de gaz à effets de serre ou le réchauffement climatique imposent aux industriels de réduire leur impact sur l'environnement et de s'insérer dans une démarche plus verte. Dans le domaine de l'extraction cela se traduit, depuis quelques années, par le développement de techniques innovantes pour remplacer les procédés actuels utilisant des solvants pétro-sourcés et très énergivores. L'objectif de cette thèse a donc consisté en la recherche et le développement d'un nouveau procédé d'éco-extraction de produits végétaux, grâce à la combinaison d'un effet thermique, le chauffage par micro-ondes et d'un effet mécanique, la centrifugation. L'extraction est réalisée directement sur la matrice végétale fraîche, l'eau intracellulaire de la plante jouant le rôle du solvant extracteur.

La première partie de ce manuscrit présentera le pilote expérimental à l'échelle semi-industrielle combinant micro-ondes et centrifugation et son adaptation potentielle pour le domaine de l'éco-extraction.

Dans la seconde partie, les essais réalisés à l'aide de ce pilote ont été décrits pour l'extraction de métabolites secondaires choisis. Les résultats, obtenus sur des produits modèles comme la salade et les écorces d'oranges, mettent en évidence que ce pilote est opérationnel pour l'extraction de certains micronutriments. De plus, l'utilisation d'une centrifugation combinée à l'application de micro-ondes permet d'intensifier le rendement d'extraction et un gain de temps. Néanmoins, des questions quant à la compréhension relative à l'aérodynamique du système et à la distribution du champ de température au cours de l'extraction sont soulevées pour maîtriser parfaitement tous les paramètres d'extraction.

Enfin, ce procédé apparaît comme une réelle innovation dans le domaine de l'extraction et est très prometteur car il peut encore être optimisé. Il peut apporter aux industriels une solution alternative aux procédés classiques.

Mots clés : Éco-extraction, pilote, micro-ondes, centrifugation, chimie verte, optimisation, matrices végétales, métabolites secondaires.

Green extraction by microwaves and centrifugal force

Summary

Current environmental concerns such as the depletion of fossil fuels, the emission of greenhouse gases or global warming are forcing industry to reduce their impact on the environment and to be part of a greener approach. In the field of extraction, this has led, for some years now, to the development of innovative techniques to replace current processes using petroleum-based and energy-intensive solvents. The aim of this thesis was therefore to research and develop a new green extraction process for plant products, thanks to the combination of a thermal effect (microwave heating) and an effect mechanical (centrifugal force). The extraction is carried out directly on the fresh vegetable matrix, the intracellular water of the plant acting as the extracting solvent.

The first part of this manuscript will present the experimental pilot at the semi-industrial scale combining microwaves and centrifugation and its potential adaptation for the field of green extraction.

In the second part, the tests carried out using this pilot have been described for the extraction of selected secondary metabolites. The results, obtained on "model" products such as salad and orange peel, highlight that this pilot is operational for the extraction of certain micronutrients. In addition, the use of a centrifugation combined with the application of microwaves makes it possible to intensify the extraction yield and a saving of time. Nevertheless, questions about the understanding of the aerodynamic system and the distribution of the temperature field during extraction are raised to fully control all extraction parameters.

Finally, this process appears as a real innovation in the field of extraction and is very promising because it can still be optimized. It can provide manufacturers with an alternative solution to conventional processes.

Keywords: green extraction, pilot, microwaves, centrifugation, green chemistry, optimization, vegetable matrix, secondary metabolites.