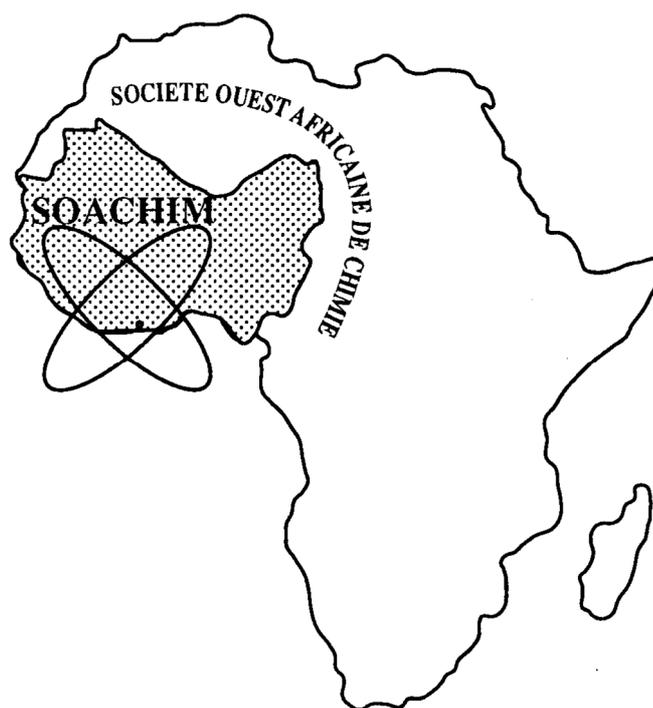


Valorisation des déchets d'agroressources par bioproduction d'acide citrique

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

Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie

J. Soc. Ouest-Afr. Chim.(2017), 044 : 36 - 42
22^{ème} Année, Décembre 2017



ISSN 0796-6687

Code Chemical Abstracts : JSOCF2
Cote INIST (CNRS France) : <27680>
Site Web: <http://www.soachim.org>

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

Esaïe Kouadio Appiah Kouassi^{1,2}, Yaya Soro^{2*}, Carlos Vaca-Garcia¹,
Benjamin Yao Kouassi²

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

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

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

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

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

Valorization of agroresources waste by bioproduction of citric acid

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

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

* Auteur correspondant : Soro Yaya : soro_y@yahoo.fr

1. Introduction

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

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

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

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

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

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

2.2. Matériel biologique

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

2.3. Préparation des substrats

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

2.4. Préparation des milieux de culture

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

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

2.5. Culture de la souche fongique

La souche d'*Aspergillus niger* a été ensemencée directement, dans des conditions stériles, dans des boîtes de pétri de 90 cm de diamètre pouvant contenir 10 mL du milieu PDA (Potato Dextrose Agar). Après une semaine d'incubation à 30°C, des spores sont apparues à la surface du tapis mycélien. Ils ont été récupérés dans de l'eau distillée stérile à l'aide d'une raclette puis ont été dénombrés à l'aide de la cellule de Thomas. La suspension fongique a été ensuite diluée pour obtenir une concentration d'environ 10⁷ spores/ mL.

2.6. Préparation des milieux de fermentation

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

2.7. Dosage des sucres totaux extractibles par l'éthanol

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

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

2.8. Détermination du potentiel Hydrogène

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

2.9. Dosage de l'acide citrique

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

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

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

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

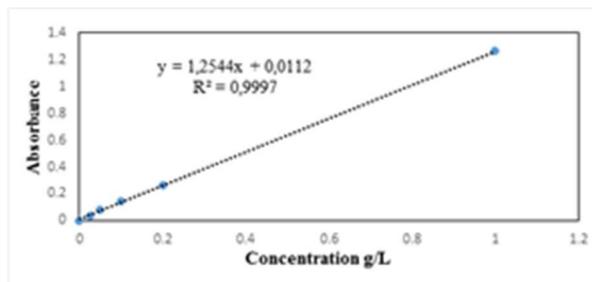


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide citrique

3. Résultats et discussion

3.1. Tests de criblage

3.1.1. Déchets de fruits sucrés

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

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

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

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

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

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

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

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

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

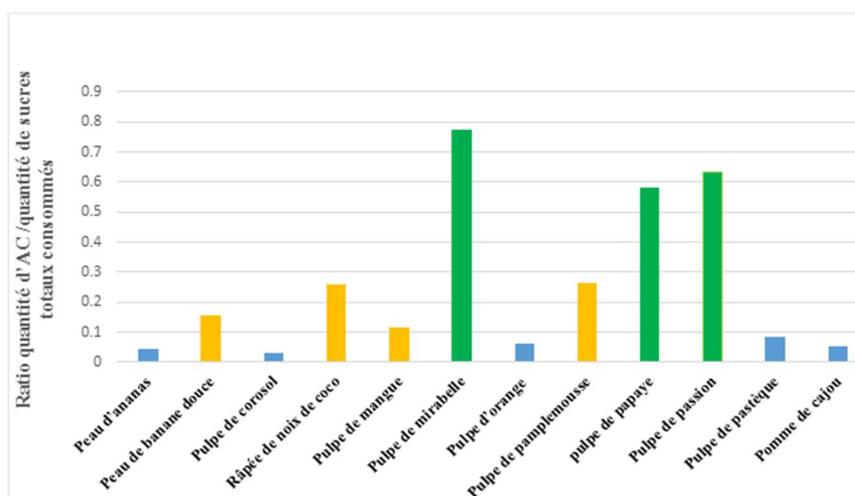


Figure 2: Rapports des teneurs en acide citrique sur la quantité de sucres totaux consommés pour les déchets de fruits sucrés

3.1.2. Déchets amylacés

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

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

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

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

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

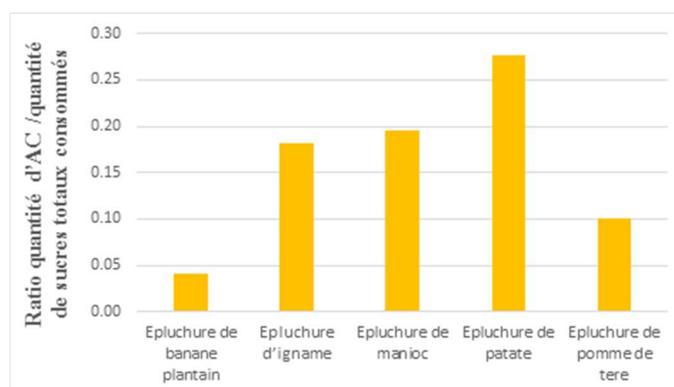


Figure 3: Rapports des teneurs en acide citrique sur la quantité de sucres totaux consommés pour les déchets amylacés

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

3.2 Production d'acide citrique

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

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

3.2.1. Variation de la teneur en acide citrique

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

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

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

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

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

3.2.2. Variation du potentiel hydrogène du milieu durant la fermentation

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

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

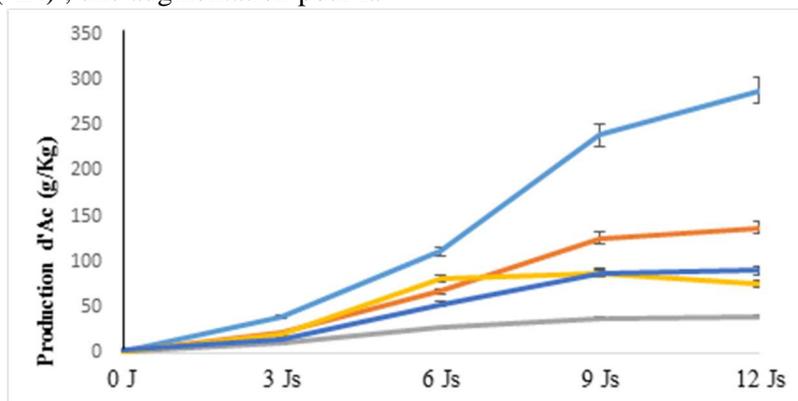


Figure 4 : Variation de la teneur en acide citrique des déchets de fruits et d'amylacés durant la fermentation

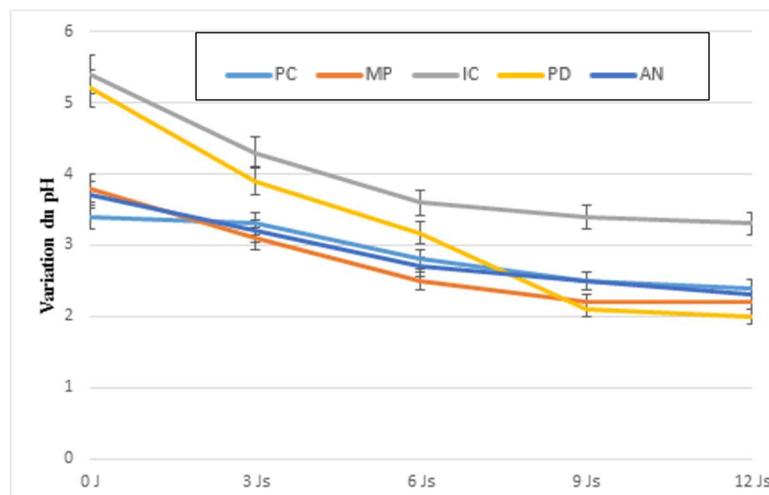


Figure 5 : Variation du potentiel Hydrogène du milieu durant la fermentation des déchets de fruits et d'amylacés

4. Conclusion

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

5. Remerciements

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

6. Références bibliographiques

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

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