

Enrichissement endogène de l'huile d'olive dans les moulins

3.1 Introduction

L'huile d'olive fait partie du patrimoine culturel et historique de l'humanité. Elle se trouve être un produit doté de grandes qualités organoleptiques et nutritionnelles qui lui valent l'honneur d'être servie sur les plus grandes tables, citée par les plus grands chefs et étudiée par le monde scientifique. L'huile d'olive est composée d'environ 99 % de triglycérides. Sa composition en acides gras est caractérisée par une teneur importante en acides gras mono-insaturés, en particulier en acide oléique et en acides gras poly-insaturés (linoléique, et acide linoléique). Outre ce bagage intéressant, l'autre attrait de l'huile d'olive réside en sa richesse en composés minoritaires tels que les composés phénoliques et en tocophérols.

De nombreuses études ont montré par le passé que le type de chaîne de fabrication de l'huile d'olive pouvait avoir une grande influence sur la qualité finale de celle-ci (Di Giovacchino, 2002 ; Gimeno, 2002). Ces travaux de thèse permettent de détailler l'influence de chacune des étapes de production de l'huile à travers l'étude de nombreux paramètres :

- l'analyse des paramètres physicochimiques de l'huile
- les détails de la composition de l'huile en acide gras, arômes, composés phénoliques ou encore en tocophérols
- une analyse originale en microscopie électronique à balayage pour comprendre l'impact cellulaire de certaines étapes de la chaîne de production.

L'ensemble des données collectées ouvre de nouvelles réflexions sur les techniques conventionnelles de fabrication de l'huile d'olive et permet de mettre en valeur l'intérêt de certaines techniques par rapport à d'autres. Cela aboutit également au développement de certains systèmes innovants comme celui de l'utilisation du vase florentin en fin de procédé pour permettre de retirer très rapidement les margines du mélange de liquides.

3.2 Plans d'action dans les moulins

3.2.1 Campagne 2007/2008

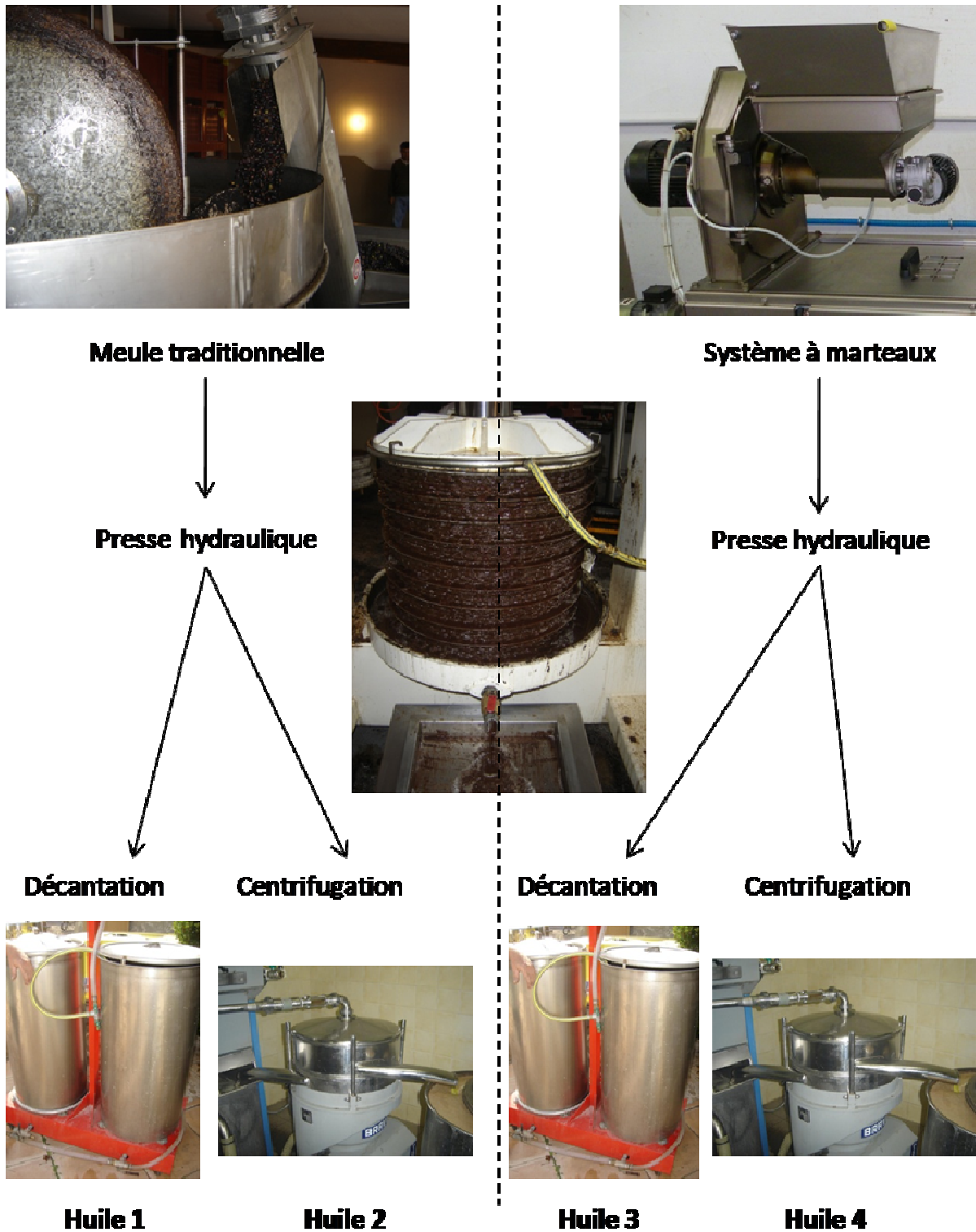


Figure 31 : Prélèvements pour la campagne 2007-2008

Lors de cette première année de prélèvements, deux systèmes de trituration des olives ont été testés (Figure 31) :

- un système de meules tournantes comprenant deux meules de granit de 23 cm d'épaisseur et tournant à la vitesse de 17 tours par minute. La charge maximale du bac de trituration était de 250 kg d'olives et le broyage a duré 35 minutes à température ambiante (20°C).
- un système de marteaux à 6 bras métalliques (voir également Figure 3) tournant à une vitesse de 2890 tours par minute. Une fois triturée à température ambiante, la pâte d'olives broyées passe à travers une grille de 0,7 cm de diamètre avant de tomber dans le bac de malaxage.

Le malaxage a ensuite été réalisé dans un container métallique où tournait une vis sans fin sans aucun chauffage de la pâte d'olive. Cette étape dura 25 minutes afin de permettre une bonne coalescence des gouttelettes d'huile. La pâte d'olive a ensuite été placée sur des disques de fibre synthétique empilés les uns sur les autres puis placés dans un système de presse hydraulique où une pression de 400 bars a été appliquée à l'empilement de disques. Ceci permet une séparation solide/liquide puis la fraction liquide contenant de l'eau et de l'huile est centrifugée à 7000 tours par minute pendant 10 minutes. Les différentes huiles d'olive obtenues ont été aliquotées puis immédiatement congelées et conservées à -18°C avant analyses.

3.2.2 Campagne 2008-2009

Lors de la seconde campagne de prélèvements (Figure 32) les deux mêmes systèmes de trituration ont été utilisés (meules de granit et broyeurs à marteaux). Deux raisons principales à cela ; tout d'abord parce que des conclusions ne peuvent pas être tirées sur les résultats d'une seule campagne mais sur la répétition sur plusieurs campagnes consécutives ; ensuite parce que cette deuxième année le travail a aussi porté sur l'influence de la séparation des phases solides et liquides. Le moulin d'Aurillac possède deux types d'installations : un système continu et un système de meules tournantes.



Meule traditionnelle



Presse hydraulique

Décantation

Centrifugation



Huile 1



Huile 2



**Système à marteaux
avec triple malaxeur**



Séparateur 3 phases

Décantation

Centrifugation



Huile 3



Huile 4

Figure 32 : Prélèvements pour la campagne 2008-2009

- le système semi-continu avec un broyage des olives par des meules tournantes en granit, cuve de malaxage simple, presse hydraulique avec empilement de scourtins suivie soit d'une décantation gravitationnelle soit d'une centrifugation pour la séparation des phases liquides. Le système est dit semi-continu car la pâte d'olive est convoyée automatiquement du bac de broyage au malaxeur puis déposée sur les scourtins mais l'empilement de scourtins doit être amené manuellement vers la presse hydraulique. Le mélange huile/eau est ensuite pompé et convoyé automatiquement vers la centrifugeuse, mais le moulinier doit vider les scourtins après l'étape de pressage.
- un système continu avec broyage des olives par un système de marteaux, triple bac de malaxage puis centrifugeuse horizontale pour la séparation entre matières solides et liquides, puis une centrifugeuse classique pour la séparation des phases liquides. Il est à noter que le moulinier contrôle chaque étape du procédé mais il ne manipule jamais la pâte d'olive. Celle-ci est convoyée d'une étape à une autre par des systèmes de pompage et de tuyauterie, du broyage jusqu'à l'obtention du produit fini : l'huile d'olive.

3.2.3 Campagne 2009-2010

Les travaux effectués durant des deux premières années ont été repris au cours de cette dernière année et deux nouveaux systèmes y ont été ajoutés (Figure 33):

- Un système de vase florentin (Figure 34) : ce système pourrait venir en complément ou remplacer celui de la décantation gravitationnelle classique. L'intérêt de ce système est que le temps de contact entre les margines et l'huile est réduit puisque les margines sont éliminées au fur et à mesure.
- Système continu avec séparateur deux phases. Cette installation est présente au moulin de Mr Bodel. L'intérêt principal de cette étude est d'analyser l'impact de la centrifugation horizontale sur la qualité nutritionnelle de l'huile d'olive puisque cette étude est menée en parallèle de celle avec un séparateur trois phases.

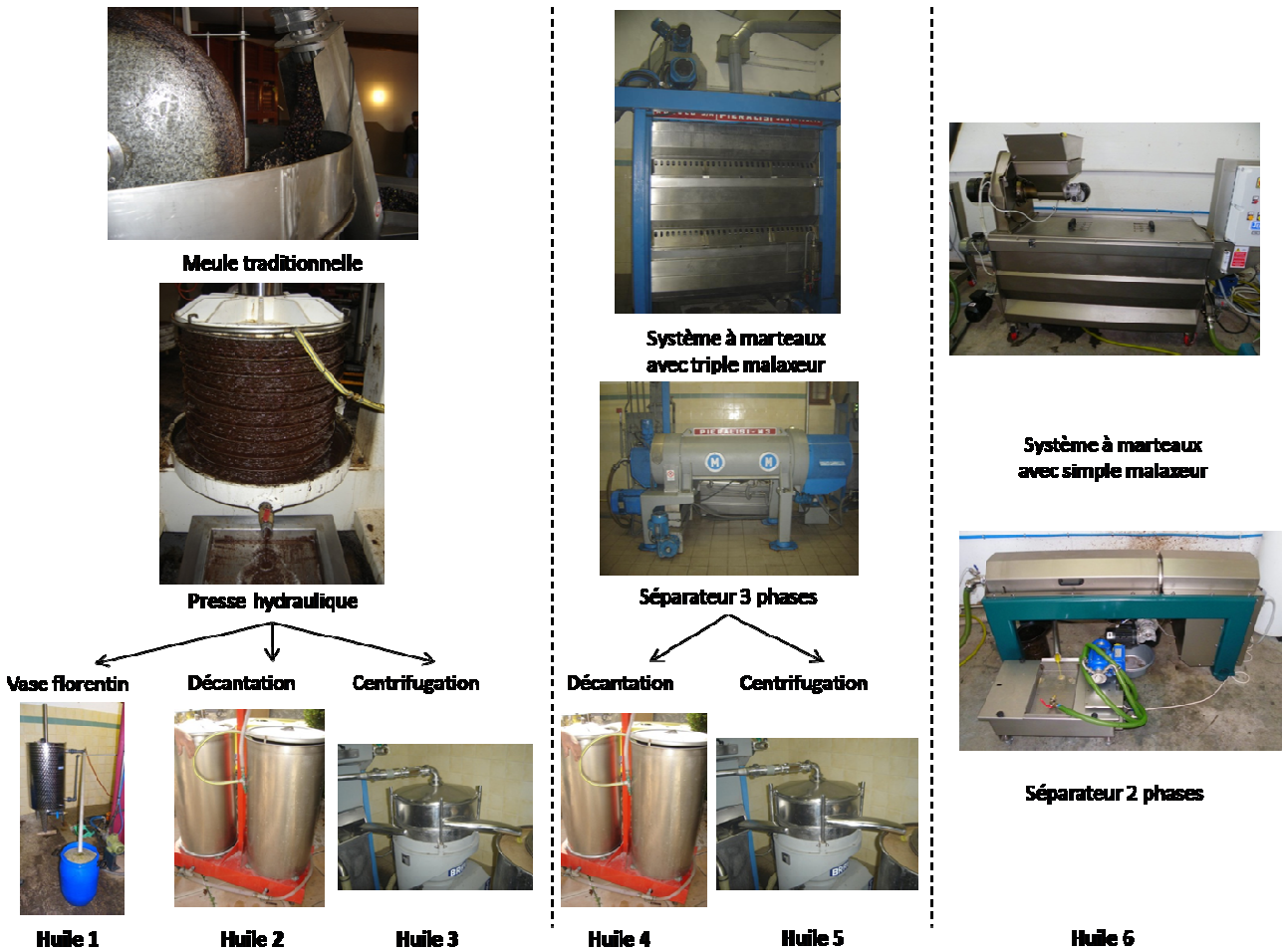


Figure 33 : Prélèvements pour la campagne 2009-2010

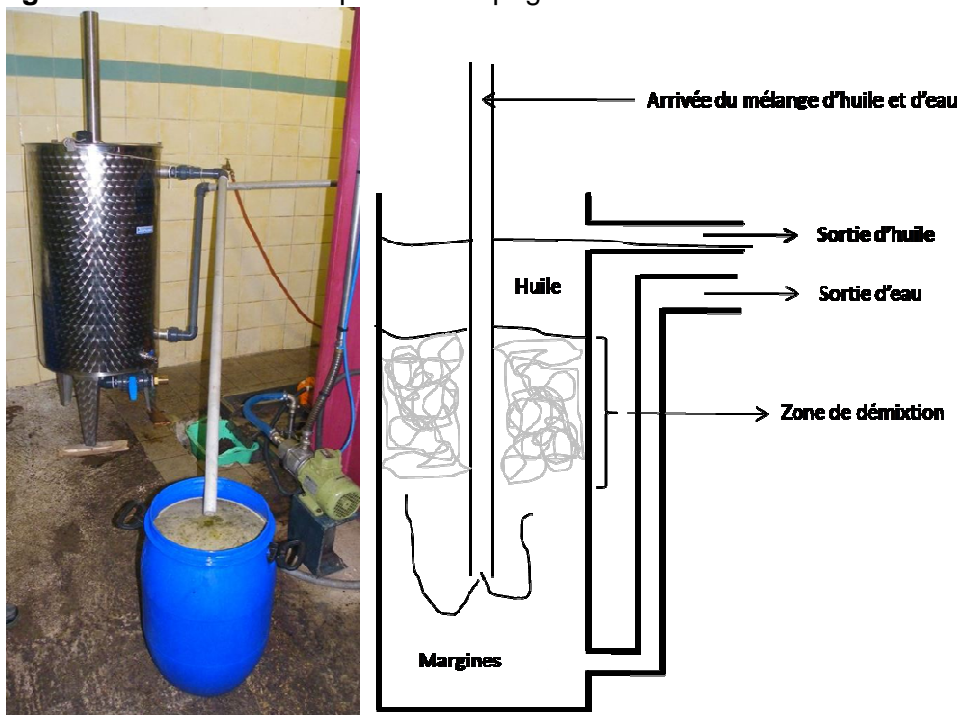


Figure 34 : Vase florentin expérimental

3.3 Analyse des données récoltées

Afin d'optimiser la qualité nutritionnelle de l'huile d'olive finale, les différentes chaînes de production de l'huile d'olive ont été étudiées dans leur ensemble et par opération unitaire. Les différentes étapes de la chaîne de production peuvent être séparées en trois phases :

- Effet du procédé de trituration : les huiles obtenues suite à un broyage à la meule traditionnelle seront comparées à celles obtenues suite à un broyage par système à marteaux, indépendamment des autres phases du procédé de fabrication de l'huile d'olive.
- Effet du procédé de séparation des phases liquides : les huiles obtenues par centrifugation verticale seront comparées à celles obtenues par décantation gravitationnelle.
- Effet du système à deux phases par rapport au système à trois phases suivi d'une étape de centrifugation

3.3.1 Etude du procédé de broyage des olives

Afin d'évaluer les changements de composition chimique des huiles d'olive en fonction du procédé de trituration des olives, un même lot d'olives a été broyé soit par meule traditionnelle, soit par un système à marteaux (Veillet, 2009a). Dans les deux cas les pâtes obtenues ont subi une étape de malaxage puis une étape de pressage avant que les fractions liquides ne soient séparées par centrifugation.

3.3.1.1 Caractéristiques physicochimiques

Différents paramètres ont ensuite été étudiés, à commencer par les paramètres physicochimiques des huiles. Ceux-ci comprennent la valeur peroxyde, l'acidité libre et la teneur en polyphénols totaux et les résultats sont présentés dans le tableau 11.

Tableau 11 : Impact du broyage sur les caractéristiques physicochimiques des huiles

Paramètre	Meule traditionnelle	Système à marteaux
Acidité libre (% acide oléique)	0,16 ± 0,01	0,18 ± 0,01
Valeur peroxyde (meqO ₂ /kg)	5,79 ± 0,21	5,40 ± 0,10
Polyphénols totaux (mg GAE/L)	416 ± 27	563 ± 39

GAE : équivalents acide gallique

Ces études préliminaires montrent que les huiles d'olive issues des deux procédés d'extraction sont très peu oxydées car elles ont des valeurs peroxyde très faibles par rapport à de nombreuses autres études (Rotondi, 2004 ; Aparicio, 1999) et également très peu d'acidité libre. La norme européenne stipule que pour porter l'appellation « huile d'olive vierge extra » l'huile d'olive ne doit pas avoir un taux d'acidité libre supérieur à 0,8 % d'acide oléique et une valeur peroxyde inférieure à 20 meq O₂/kg d'huile. Ces huiles ne présentent donc aucune contre-indication à ce stade pour pouvoir porter l'appellation. Aucune différence significative ($\alpha = 0,05$) n'a été trouvée entre les deux traitements sur les critères de valeur peroxyde et d'acidité libre. Rotondi *et al.* (2004) ont trouvé une corrélation positive entre faible acidité et longue durée de vie de l'huile d'olive. Nous pouvons donc pronostiquer une bonne durée de conservation pour ces huiles, peu importe le procédé de trituration utilisé.

La détermination de la teneur totale en composés phénoliques dans les huiles est la première étape dans la caractérisation des polyphénols et ces résultats ont été exprimés en équivalents acide gallique (GAE). Comme présenté dans le tableau 11, la teneur totale en composés phénoliques est très fortement corrélée au procédé utilisé. Les valeurs les plus élevées ont été trouvées dans les huiles issues du broyeur à marteaux (563 ± 39 contre 416 ± 27 mg GAE/kg, significativement différent ($\alpha = 0,05$)) ce qui met en évidence une meilleure extraction des composés phénoliques lors de l'utilisation d'un broyeur à marteaux. Cette observation concorde avec des précédents travaux (Di Giovacchino, 2002 ; Caponio, 1999) qui attribuent cette valeur supérieure au fait que les broyeurs métalliques sont des procédés plus destructeurs au niveau de la chair de l'olive que ne le sont les roues de granit.

La plus forte teneur en composés phénoliques dans les huiles issues d'un procédé de trituration par marteaux se ressent au niveau sensoriel car les composés phénoliques sont associés à l'amertume et au piquant de l'huile d'olive (Esti, 2009 ; Gutierrez-Rosales, 2003).

Chez les amateurs de « fruité vert » ce paramètre peut être très important, néanmoins les huiles dégustées directement à la sortie d'un procédé utilisant des marteaux sont souvent décrites comme trop amères et elles doivent être laissées quelques semaines en cuve ou en bouteille avant d'être consommées. La plus faible teneur en composés phénoliques dans les huiles issues de la meule fait que ces huiles sont directement consommables, mais elles pourraient avoir une durée de vie plus courte étant donné que les composés phénoliques sont positivement corrélés à la durée de vie de l'huile.

3.3.1.2 Analyse des polyphénols

Afin de compléter l'étude sur les composés phénoliques, nous avons cherché à déterminer les modifications au niveau de chaque composé phénolique. La tentative d'identification des phénols dans les deux types d'huile d'olive a été réalisée par CLHP à barrette de diode (Figure 35). L'identification des composés phénoliques a été réalisée par comparaison de leur temps de rétention et de leurs spectres UV avec ceux d'étalons. Le tyrosol, l'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide p-coumarique, l'acide ferulique et l'acide trans-cinnamique pour les phénols simples et les acides phénoliques et l'apigénine et la lutéoline pour les flavonoïdes ont été facilement identifiés et quantifiés grâce à la présence d'étalons disponibles dans le commerce (Tableau 12).

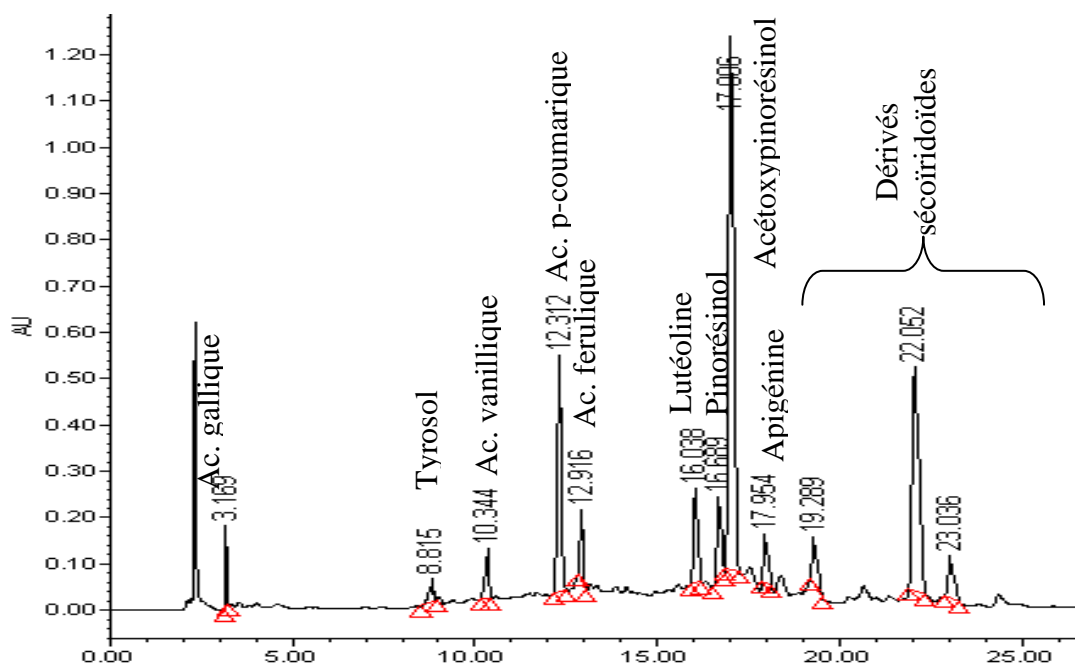


Figure 35 : Séparation des composés phénoliques

Tableau 12 : Concentrations en composés phénoliques déterminées par CLHP

Composé	TR (min)	λ_{\max} (nm)	Meule (mg/kg)	Marteaux (mg/kg)
Ac. Gallique	3,1	226, 272	1,60 ± 0,20	1,32 ± 0,14
Tyrosol	4,6	225, 277	2,99 ± 0,17	3,00 ± 0,54
Ac. vanillique	5,6	261, 292	1,83 ± 0,12	1,27 ± 0,12
Ac. p-coumarique	8,4	230, 310	2,25 ± 0,16	1,97 ± 0,42
Ac. ferulique	9,2	235, 323	1,95 ± 0,12	1,62 ± 0,22
Lutéoline	12,7	253, 348	4,66 ± 0,25	4,20 ± 0,31
Apigénine	14,7	224, 267, 337	1,64 ± 0,17	1,61 ± 0,14

TR : temps de rétention

Les résultats montrent que la lutéoline et le tyrosol sont les composés identifiés majoritaires dans l'huile d'olive et cela dans les deux types d'huile. Très peu de différence de composition entre les deux types d'huile a été observée donc le type de broyage ne semble pas influencer la distribution en composés phénoliques. Il est à noter que ces résultats ne sont représentatifs que de certaines familles de composés car d'autres familles telles que celle des composés sécoïridoïdes sont beaucoup plus difficiles à étudier étant donné la très forte diversité des dérivés et l'absence de molécules étalons.

3.3.1.3 Analyse de la composition en acides gras

Dès la première observation du chromatogramme (Figure 36), nous remarquons que l'acide gras majoritaire est l'acide oléique (C18 :1) suivi de l'acide palmitique (C16 :0) et de l'acide linoléique (C18 :2). L'intégration des aires sous les pics permet de déterminer les proportions de chacun de ces acides gras. Les résultats de cette intégration sont présentés dans le tableau 13.

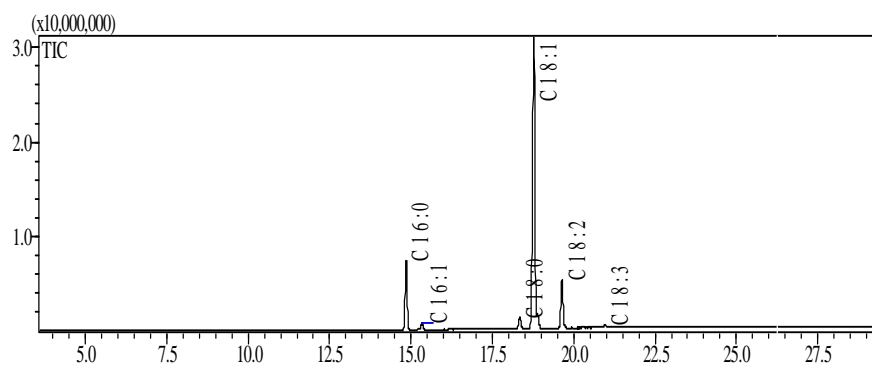


Figure 36 : Chromatogramme de la composition en acides gras de l'huile d'olive déterminée par CPG/FID

Tableau 13 : Composition en acides gras des huiles issues d'un broyage à meule traditionnelle ou d'un broyeur à marteaux

Acide gras	TR (min)	Meule (%)	Marteaux (%)
C14:0	9,73	Traces	Traces
C15:0	10,85	Traces	Traces
C16:0	12,18	11,76 ± 0,37	12,32 ± 0,27
C16:1	12,60	0,88 ± 0,02	1,12 ± 0,26
C17:0	13,68	0,16 ± 0,04	0,12 ± 0,05
C17:1	14,04	0,30 ± 0,09	0,29 ± 0,11
C18:0	15,30	2,59 ± 0,18	2,78 ± 0,08
C18:1	15,75	73,12 ± 0,69	73,28 ± 0,42
C18:2	16,43	9,64 ± 0,06	9,05 ± 0,15
C18:3	17,49	0,56 ± 0,01	0,51 ± 0,06
C19:0	16,89	Traces	Traces
C20:0	18,61	0,46 ± 0,03	0,28 ± 0,07
C20:1	18,99	0,17 ± 0,13	0,07 ± 0,05
C21:0	20,44	Traces	Traces
C22:0	22,60	0,06 ± 0,05	0,04 ± 0,02
C23:0	25,31	Traces	Traces
C24:0	28,74	0,07 ± 0,01	0,03 ± 0,01
AGS		15,32 ± 0,13	15,69 ± 0,10
AGMI		74,48 ± 0,23	74,76 ± 0,17
AGPI		10,20 ± 0,04	9,56 ± 0,07
C18:1/C18:2		7,59	8,10
ω6/ω3		16,5	17,7

Le procédé de trituration n'influence pas grandement la composition en acide gras des huiles. Deux explications à cela : tout d'abord le fait que les lipovacuoles des drupes d'olive ne peuvent pas libérer préférentiellement un acide gras plutôt qu'un autre en fonction du procédé de trituration, mais elles libèrent l'ensemble de leur contenu. Ensuite la forte teneur des huiles en composés minoritaires protège les acides gras de l'oxydation ou de la dégradation. Les acides gras majoritaires sont l'acide oléique, palmitique, linoléique et stéarique comme repérés sur la figure 36. Un bon rapport entre acide oléique et acide linoléique a également été trouvé (rapport recommandé supérieur à 7) or ce rapport a déjà été corrélé à une longue durée de vie de l'huile d'olive (Rotondi, 2004). Des rapports similaires ont également été trouvés dans une autre publication sur l'huile d'olive de la même région de France (Ollivier, 2006).

3.3.1.4 Analyse des composés volatiles

Le tableau 14 résume les résultats obtenus par analyse en HS-SPME/CG/SM (figure 37). Les principales familles de composés identifiés sont des alcools et des aldéhydes principalement à 5 et 6 atomes de carbone. En effet, les composés majoritaires sont l'hexenal et l'hexanal qui développent les arômes de « vert » ou « d'herbe fraîchement coupée » et de « sucré » dans l'huile (Kalua, 2007; Morales 1997). Les composés à 6 atomes de carbone représentent environ 70 % de la fraction volatile totale et ils sont issus de la dégradation des acides gras poly-insaturés par des lyxogénases. Les aldéhydes et les alcools à 5 atomes de carbone contribuent aussi de façon positive à l'arôme de l'huile en apportant une sensation de « fruité ». A l'inverse, les cétones à 5 atomes de carbone (particulièrement le penten-3-one) apportent une sensation de piquant et sont aussi corrélés à l'amertume de l'huile (Angerosa, 2000b). La petite quantité d'esters présents dans l'huile peut aussi avoir un impact positif au niveau sensoriel car ils apportent généralement une sensation de fruité (Kalua, 2007).

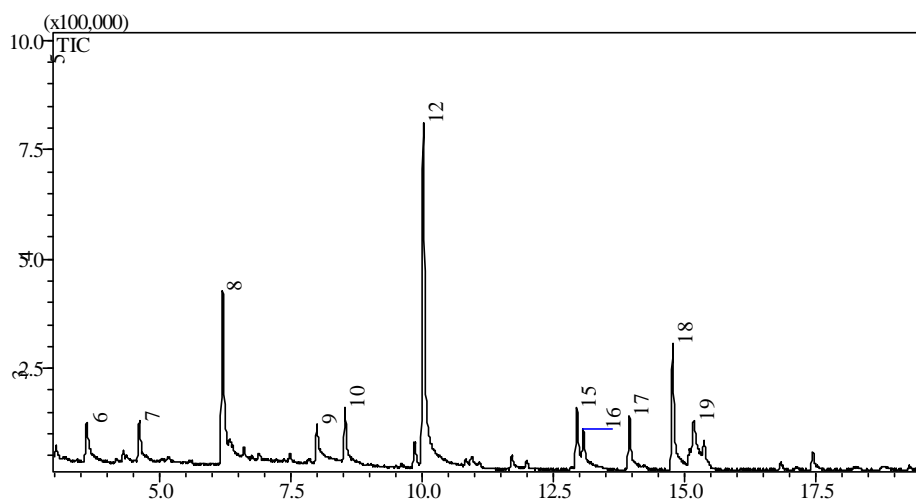


Figure 37 : Chromatogramme de CPG/SM représentant les composés de la fraction volatile d'une huile d'olive. Les pics majoritaires sont : ⁽⁶⁾ 3-pentanone ; ⁽⁷⁾ 1-penten-3-one ; ⁽⁸⁾ hexanal ; ⁽⁹⁾ (*Z*)-3-hexenal ; ⁽¹⁰⁾ 1-penten-3-ol ; ⁽¹²⁾ (*E*)-2-hexenal ; ⁽¹⁵⁾ (*E*)-3-hexenyl acetate ; ⁽¹⁶⁾ (*E*)-2-pentenol ; ⁽¹⁷⁾ hexanol ; ⁽¹⁸⁾ (*Z*)-hex-3-en-1-ol ; ⁽¹⁹⁾ (*E*)-2-hexen-1-ol

Tableau 14 : Composition de la fraction volatile de l'huile d'olive déterminée par CPG/SM

N° pic	Composés volatiles	IR échantillon	IR étalon	IR bibliographie	Meule (%)	Système à marteaux (%)
6	3-pentanone	975		980 ^a	3,1 ± 0,01	5,1 ± 0,30
7	1-penten-3-one	1012	1012		1,7 ± 0,08	3,9 ± 0,05
8	Hexanal	1069	1073		15,8 ± 0,99	11,1 ± 0,39
9	(<i>Z</i>)-3-hexenal	1134		1132 ^b	2,0 ± 0,41	2,1 ± 0,14
10	1-penten-3-ol	1153	1154		3,4 ± 0,38	4,5 ± 0,28
12	(<i>E</i>)-2-hexenal	1208	1209		31,5 ± 0,80	25,1 ± 1,51
15	(<i>E</i>)-3-hexenyl acetate	1313		1308 ^b	4,8 ± 0,22	4,2 ± 0,05
16	(<i>E</i>)-2-pentenol	1317		1335 ^a	2,9 ± 0,25	3,2 ± 0,03
17	hexanol,	1348		1351 ^b	3,6 ± 0,06	3,9 ± 0,02
18	(<i>Z</i>)-hex-3-en-1-ol,	1378	1378		9,2 ± 0,08	9,3 ± 0,98
19	(<i>E</i>)-2-hexen-1-ol	1400		1400 ^b	2,3 ± 0,36	1,9 ± 0,06

IR échantillon: Indice de rétention du composé dans l'échantillon

IR étalon: Indice de rétention du composé étalon

IR bibliographie: Indice de rétention trouvé dans la bibliographie

^a : Ruther, 2000

^b : Bianchi., 2007

3.3.1.5 Analyse en microscopie électronique à balayage (MEB)

Des fragments d'olive prélevés aux différentes étapes des deux procédés de fabrication de l'huile d'olive (broyage et malaxage) ont été observés par MEB (Figure 38) afin de voir l'impact des procédés de trituration à l'échelle cellulaire. Les critères les plus importants étaient la structure intercellulaire des olives et la présence ou non de gouttelettes d'huile d'olive. Comme le montrent les figures 38a et 38b, la structure intercellulaire de la chair de l'olive a été conservée après le broyage par les marteaux. Ceux-ci ont seulement coupé et ouvert le fruit mais n'ont pas détruit la structure intercellulaire (l'organisation cellulaire est toujours facilement visible). Au milieu de la figure 38a on peut observer des gouttelettes d'huile prêtes à être libérées de la matrice cellulaire. Une fois libérées, les gouttelettes ont une apparence sphérique en MEB.

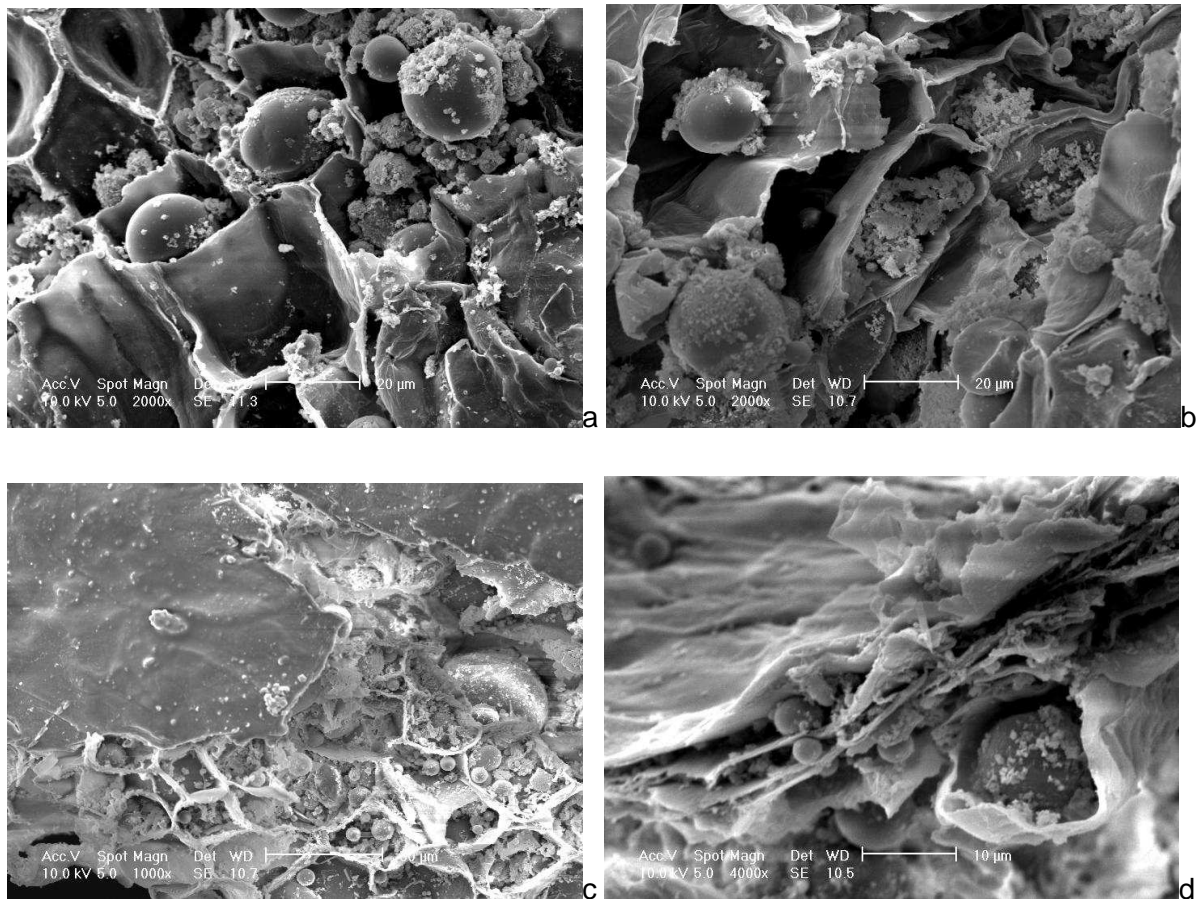


Figure 38 : Photographies de microscopie électronique à balayage à 10 kV: (a) et (b) après broyage à marteaux, (c) et (d) après broyage à meule.

Au contraire de ce qui a été observé pour le broyage à marteaux, la roue de granit détruit les structures intercellulaires comme le montrent les figures 38c et 38d. Sur ces images, nous voyons que les différentes couches de cellules ont subi une compression et il est facile de comprendre qu'une partie des gouttelettes d'huile d'olive peut être retenue à l'intérieur de cet empilement de couches cellulaires, ce qui pourrait expliquer les plus faibles rendements obtenus par ce type de procédé.

Cette étude montre que le type de broyage utilisé peut influencer ce qui se passe au niveau cellulaire : les meilleurs rendements habituellement observés après le broyage aux marteaux peuvent être expliqués à la fois par des meilleures coupes des cellules et aussi par la rétention des gouttelettes d'huile d'olive entre les couches cellulaires lors d'un broyage à la meule de granit.

3.3.2 Etude du procédé de séparation liquide-liquide

Des dosages sur les huiles issues de la centrifugation et de la décantation ont été faits au cours des trois années. L'année de référence pour les résultats sera la campagne 2009/2010 car c'est celle qui comporte le plus d'informations, puis les résultats de cette campagne seront comparés aux résultats des autres campagnes afin de dégager de réelles tendances sur 3 années.

Les résultats concernant l'influence du procédé de séparation eau/huile ne peuvent être que comparés deux à deux. En effet, les procédés de trituration et de séparation des phases liquides et solides sont différents (meule suivie de presse hydraulique contre marteaux suivis de centrifugeuse horizontale) et peuvent donc avoir un impact sur la composition de l'huile d'olive (voir 3.3.1). Nous pourrions donc comparer ici les huiles obtenues par décantation et centrifugation suite au broyage à la meule traditionnelle d'une part et les huiles obtenues par décantation et centrifugation suite au broyage à marteaux d'autre part.

3.3.2.1 Caractéristiques physicochimiques

Quel que soit le procédé utilisé, les huiles sont très peu oxydées puisque l'acidité libre et la valeur peroxyde sont très inférieures aux valeurs limites correspondant à l'appellation « huile d'olive vierge extra » (Tableau 15). Cependant quelques disparités

peuvent être observées au niveau du dosage en peroxydes. En effet, dans les deux types de procédés (traditionnel et continu), les valeurs peroxydes sont légèrement plus élevées après centrifugation de l'huile par rapport aux huiles obtenues par décantation. Cela signifie que l'activité oxydative est légèrement plus développée dans ce type d'huile et peut entraîner une réduction de la durée de vie des huiles centrifugées.

Tableau 15 : Paramètre physicochimiques des huiles d'olive en fonction du procédé de séparation huile/eau

Paramètres	Meule traditionnelle		Système à marteaux	
	Décantation	Centrifugation	Décantation	Centrifugation
Acidité libre (% acide oléique)	0,15 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,14 ± 0,01
Valeur peroxyde (meq O ₂ /kg)	2,82 ± 0,18	3,25 ± 0,10	3,76 ± 0,12	4,35 ± 0,25
Polyphénols totaux (mg GAE/kg)	423 ± 23	321 ± 17	570 ± 19	445 ± 19

La même observation peut être faite pour la teneur totale en composés phénoliques. Une augmentation de 32 % de cette teneur a été observée pour l'huile issue de la décantation suite à un procédé de trituration traditionnel (423 ± 23 contre 321 ± 17 mg GAE/kg) et une augmentation de 28 % a été observée sur l'huile obtenue par système en continu (570 ± 19 contre 445 ± 19 mg GAE/kg). Ces différences sont statistiquement significatives et montrent que la décantation permet une meilleure rétention des composés phénoliques dans l'huile. Ceux-ci sont plus ou moins polaires en fonction de la taille de la molécule, du nombre de groupements hydroxyles et de la présence de glucosides ce qui fait que la majeure partie des composés phénoliques est éliminée dans les margines. Lors de la centrifugation des huiles, l'équilibre de partage entre l'huile et l'eau est encore déplacé, favorisant ainsi le passage des molécules ayant la partie hydrophile la plus importante vers la phase aqueuse. Cela induit de plus faibles proportions de composés phénoliques dans les huiles obtenues par centrifugation.

Ce plus faible taux de composés phénoliques a des conséquences multiples sur l'huile et sa stabilité car les acides gras sont moins bien protégés vu que la quantité d'antioxydants est moins importante. Cela a pour conséquence d'accélérer légèrement la vitesse de dégradation de l'huile et de favoriser la formation de radicaux peroxydes. Ce type d'huile pourra donc se conserver moins longtemps qu'une huile obtenue par simple décantation.

3.3.2.2 Dosage des tocophérols

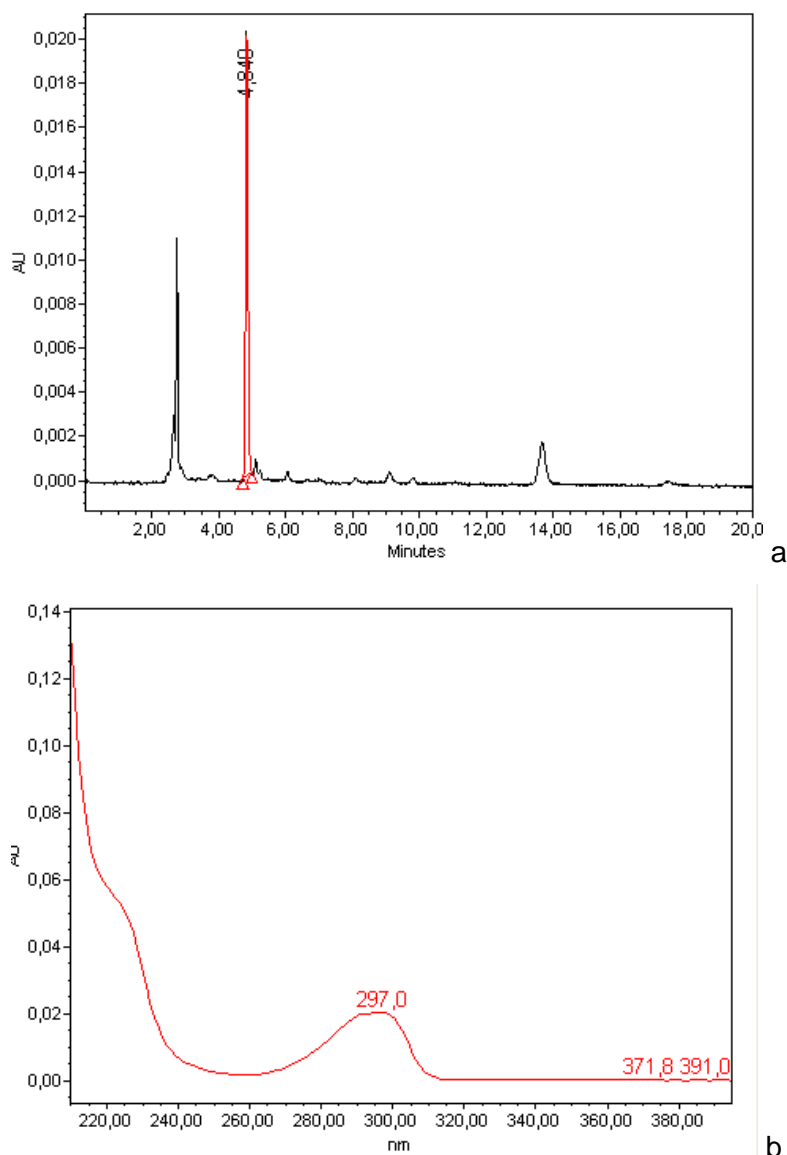


Figure 39 : Dosage des tocophérols : chromatogramme (a) et spectre d'absorption correspondant au pic identifié (b)

Les tocophérols protègent les composés phénoliques de l'oxydation et ont donc un rôle très important dans les huiles d'olive. Ils ont ici été détectés et quantifiés par CLHP (Figure 39). Contrairement aux composés phénoliques, les tocophérols ne se retrouvent que dans la phase lipophile ce qui les rend moins sensibles au phénomène de centrifugation (Tableau 16). Des valeurs légèrement supérieures ont cependant été retrouvées dans les huiles issues de la décantation. Les tocophérols étant les premiers antioxydants à réagir, la très légère diminution de leur contenu dans les huiles obtenues par centrifugation pourrait signifier que certains tocophérols ont déjà été consommés pour protéger l'huile de l'oxydation. Cette plus faible concentration en tocophérols pourrait également réduire le temps de conservation de ces huiles, cependant la différence n'est pas significative donc elle ne devrait pas jouer un rôle majeur.

Tableau 16 : Concentration en tocophérols en fonction du procédé de séparation des phases liquides

	Meule traditionnelle		Système à marteaux	
	Décantation	Centrifugation	Décantation	Centrifugation
α -tocophérols (mg/kg)	179 \pm 18	148 \pm 17	214 \pm 12	192 \pm 24

3.3.2.3 Analyse des polyphénols

Tableau 17 : Composition phénolique des huiles en fonction du système de séparation eau/huile

Composé	Meule traditionnelle (mg/L)		Système à marteaux (mg/L)	
	Décantation	Centrifugation	Décantation	Centrifugation
Ac. Gallique	0,16 \pm 0,07	0,24 \pm 0,07	0,16 \pm 0,01	0,12 \pm 0,02
Tyrosol	2,02 \pm 0,14	2,11 \pm 0,25	1,48 \pm 0,04	1,40 \pm 0,21
Ac. Vanillique	0,69 \pm 0,04	0,42 \pm 0,02	0,33 \pm 0,01	0,19 \pm 0,01
Ac. p-coumarique	1,59 \pm 0,01	1,18 \pm 0,14	1,56 \pm 0,05	1,02 \pm 0,04
Ac. Ferulique	0,58 \pm 0,08	0,22 \pm 0,01	0,22 \pm 0,01	0,18 \pm 0,01
Lutéoline	2,17 \pm 0,32	1,43 \pm 0,10	4,09 \pm 0,11	3,47 \pm 0,13
Apigénin	1,52 \pm 0,07	1,16 \pm 0,09	1,74 \pm 0,07	1,66 \pm 0,11

Le tableau 17 met en évidence que les concentrations des différents composés phénoliques sont généralement plus élevées dans les huiles obtenues par simple décantation, ce qui confirme le résultat obtenu en 3.3.2.1. Les principales différences observées entre les deux types d'huile sont au niveau de l'acide p-coumarique et des flavonoïdes. Ces derniers sont les composés identifiés ayant la masse moléculaire la plus importante ce qui les rend plus sensibles au phénomène de centrifugation que les composés de taille inférieure.

3.3.2.4 Analyse de la composition en acides gras

Une nouvelle fois, très peu de différences de composition en acides gras peuvent être observées en fonction de l'un ou l'autre des procédés de séparation des phases liquides (Tableau 18). Les rapports $\omega 6/\omega 3$ sont proches de 12 ce qui correspond aux valeurs trouvées par de précédentes études (Ollivier, 2006).

Tableau 18 : Composition en acides gras en fonction du procédé de séparation eau/huile

Acide gras	Meule traditionnelle (%)		Système à marteaux (%)	
	Décantation	Centrifugation	Décantation	Centrifugation
C16:0	13,94 ± 0,22	14,11 ± 0,37	13,76 ± 0,10	14,30 ± 0,34
C16:1	1,34 ± 0,02	1,35 ± 0,03	1,36 ± 0,03	1,38 ± 0,04
C18:0	2,42 ± 0,11	2,27 ± 0,12	2,27 ± 0,03	2,46 ± 0,20
C18:1	74,28 ± 0,45	74,06 ± 0,84	73,22 ± 0,39	72,47 ± 1,30
C18:2	6,98 ± 0,28	7,33 ± 0,06	7,98 ± 0,05	8,35 ± 0,33
C18:3	0,60 ± 0,01	0,58 ± 0,04	0,70 ± 0,10	0,64 ± 0,01
C20:0	0,35 ± 0,02	0,23 ± 0,20	0,54 ± 0,29	0,35 ± 0,01
AGS	16,71	16,61	16,57	17,11
AGMI	75,62	75,41	74,58	73,85
AGPI	7,58	7,91	8,68	8,99
$\omega 6/\omega 3$	11,6	12,6	11,4	13,0

3.3.2.5 Analyse des arômes de l'huile d'olive

Les résultats concernant le profil aromatique des huiles donnent un peu plus d'informations sur l'influence des procédés (Tableau 19). En effet les huiles obtenues par centrifugation possèdent plus d'alcools avec une chaîne de 6 carbones (hexanol et hexenal). A l'inverse les huiles obtenues par simple décantation sont plus riches en composés à 5 atomes de carbone (1-penten-3-one et 1-penten-3-ol). Le 1-penten-3-one ayant été positivement corrélé au piquant et à l'amertume de l'huile (Angerosa, 2000), les huiles obtenues par centrifugation pourraient donc être plus douces que celles obtenues par décantation. Le tableau 19 nous montre également que la concentration de 1-penten-3-one est plus influencée par l'ensemble des étapes en amont que par l'étape de séparation des phases liquides (2 % de la fraction volatile pour les huiles issues du procédé traditionnel contre 18 % pour les huiles obtenues par procédé continu). Ces différences peuvent être dues soit au procédé de trituration, au malaxage ou au mode de séparation solide/liquide ou à la combinaison de ceux-ci sans que cette étude permette de le déterminer.

Tableau 19 : Composition de l'espace de tête des huiles en fonction de leur procédé de fabrication

Composé	Meule (%)			Marteaux (%)	
	TR	Décantation	Centrifugation	Décantation	Centrifugation
3-pentanone	7.044	4,34 ± 0,17	6,23 ± 0,45	4,22 ± 0,70	4,22 ± 1,01
1-penten-3-one	8.507	2,73 ± 2,22	1,10 ± 0,03	20,50 ± 0,08	15,49 ± 1,70
1-propanol	8.901	2,33 ± 0,56	2,29 ± 0,03	0,44 ± 0,02	0,57 ± 0,07
Hexanal	10.626	3,47 ± 0,05	2,83 ± 0,48	3,38 ± 0,49	4,03 ± 0,66
Isobutanol	11.128	4,62 ± 0,68	4,69 ± 0,41	0,45 ± 0,12	0,61 ± 0,13
1-penten-3-ol	13.567	3,79 ± 0,21	2,82 ± 0,23	5,98 ± 0,20	4,70 ± 0,30
3-methylbutan-1-ol	15.496	12,29 ± 0,42	16,58 ± 1,54	1,47 ± 0,21	1,60 ± 0,19
2-hexenal	15.809	37,01 ± 2,05	25,73 ± 0,50	37,82 ± 0,60	40,39 ± 2,21
2-penten-1-ol	19.556	4,76 ± 0,70	4,31 ± 0,17	8,09 ± 0,15	8,29 ± 0,34
Hexanol	20.714	4,26 ± 0,31	8,10 ± 0,35	1,20 ± 0,01	1,71 ± 0,08
3-hexen-1-ol	21.889	6,37 ± 0,20	9,09 ± 0,52	4,11 ± 0,09	4,55 ± 0,24
2-hexen-1-ol	22.661	5,11 ± 0,32	8,95 ± 0,44	2,46 ± 0,09	2,79 ± 0,16
2,4, hexadienal	22.960	2,84 ± 0,34	1,68 ± 0,06	4,33 ± 0,03	4,63 ± 0,20

TR : temps de rétention

3.3.2.6 Le système de « vase florentin »

D'une manière générale les huiles d'olive obtenues par décantation gravitationnelle possèdent des indicateurs de qualité et de stabilité de l'huile supérieurs aux huiles obtenues par centrifugation. Ces observations ont pu être réalisées sur les 3 campagnes successives puisque sur la campagne 2007/2008 nous avons observé une augmentation de près de 70 % de la teneur en composés phénoliques après décantation et une augmentation de plus de 26 % a été observée durant la campagne 2008/2009.

La décantation des huiles pourrait donc s'imposer comme un réel atout pour l'amélioration de la qualité nutritionnelle des huiles dans les moulins, cependant ce procédé n'est pas toujours applicable à échelle industrielle, notamment pour ceux utilisant des systèmes métalliques, car la fabrication de l'huile prendrait beaucoup plus de temps, ce qui pose de nombreux problèmes :

- le premier est la nécessité de disposer d'énormes volumes de décantation
- le second serait qu'en augmentant le temps de contact entre l'huile et l'eau la quantité de composés phénoliques à migrer vers la phase aqueuse serait plus importante ce qui annulerait le bénéfice de la décantation
- même en augmentant les temps de séparation, une fraction resterait sous forme émulsionnée ce qui abaisserait les rendements en huile
- les risques de contamination microbienne sont augmentés
- enfin l'intérêt majeur des systèmes à marteaux est l'automatisation des systèmes de production, or la décantation gravitationnelle ne rentre pas dans ce type de production.

Au cours de la campagne 2009/2010, un système de vase florentin a été placé juste après la presse hydraulique. L'objectif de ce travail était le développement d'une nouvelle technique de séparation de l'eau et de l'huile dans les moulins. Les essais menés au cours de cette campagne ont permis de voir que le vase florentin permet de retirer très rapidement de grandes quantités de margines, cependant il est difficile d'obtenir de l'huile limpide dès la sortie du vase florentin. Ces premières observations sont néanmoins positives et avec quelques améliorations ce système pourrait être performant (régulation du débit d'entrée du mélange eau/huile dans le vase, optimisation de l'équilibre entre hauteur de sortie d'huile et de sortie des margines, optimisation du volume de la cuve...).

3.3.3 Comparaison entre les deux chaînes de production en continu : système trois phases *versus* deux phases

La principale différence de procédé entre ces deux systèmes de fabrication de l'huile d'olive se situe donc au niveau de la séparation entre la phase solide et la phase liquide. Dans le procédé à trois phases, l'huile est séparée des grignons par centrifugation horizontale, mais beaucoup d'eau se retrouve dans les deux fractions. Cela est dû au fort apport d'eau ajoutée pour faciliter l'action de la centrifugeuse et l'extraction de l'huile. Il en ressort de grandes quantités de grignons très humides et un mélange huile/eau qu'il faut séparer par centrifugation. Le procédé à deux phases correspond à une optimisation du système à trois phases : le principe reste le même sauf que très peu d'eau (ou pas d'eau) est ajouté au système. Les volumes de grignons sont donc beaucoup moins importants et beaucoup plus épais. En optimisant la vitesse de rotation de la centrifugeuse et le point de prélèvement à l'intérieur de celle-ci on obtient directement l'huile d'olive, sans avoir recours à une étape de centrifugation verticale. Dans les deux cas de notre étude, les olives issues d'un même lot ont été lavées, effeuillées, broyées par un système à marteaux puis la pâte a été malaxée avant la séparation des différentes phases.

3.3.3.1 Données physicochimiques

Les premières analyses réalisées étaient une nouvelle fois le dosage de l'acidité libre, de la valeur peroxyde et la détermination de la teneur totale en composés phénoliques (Tableau 20).

Tableau 20 : Caractéristiques physicochimiques des huiles obtenues par un système à deux ou trois phases

Paramètre	Centrifugeuse trois phases	Centrifugeuse deux phases
Acidité libre (% acide oléique)	0,14 ± 0,01	0,17 ± 0,01
Valeur peroxyde (meq O ₂ /kg)	4,35 ± 0,25	3,32 ± 0,28
Polyphénols totaux (mg GAE/kg)	445 ± 19	691 ± 24

Les valeurs d'acidité libre et de peroxydes sont faibles et les deux types d'huile peuvent porter l'appellation « huile d'olive vierge extra » vis-à-vis de ces critères. L'acidité libre est légèrement supérieure dans les huiles issues du système à deux phases, mais cette différence n'est pas significative, contrairement aux valeurs suivantes.

Tout d'abord la valeur peroxyde est de plus de 30 % supérieure dans l'huile issue du système à trois phases (significativement différent, $p < 0.01$). Dans les deux cas nous avons des systèmes continus et pratiquement clos, mais le système à trois phases comporte une étape de procédé de plus que le système à deux phases, ce qui augmente le temps de contact entre les margines et l'huile d'olive et qui pourrait expliquer une valeur peroxyde légèrement plus élevée.

Le second paramètre significatif dans le tableau 20 est la teneur totale en composés phénoliques. En effet, dans cette étude, l'huile issue du procédé à deux phases comporte environ 55 % de composés phénoliques en plus que l'huile obtenue par séparateur à trois phases. Cette forte augmentation de la teneur en composés phénoliques est en accord avec d'autres travaux préalablement réalisés. Ainsi Gimeno en 2002 trouvait une augmentation de près de 70 % par un système à deux phases alors que Salvador en 2003 obtenait près de 15 % de phénols en plus dans une huile issue d'un système à deux phases. Gimeno justifie cet écart par le fait que l'addition d'eau dans le système à trois phases altère l'équilibre de partition des phénols entre les deux phases liquides. La diminution de la concentration de composés phénoliques dans la phase lipidique est due à une dilution de ceux-ci dans la phase aqueuse. L'addition d'eau a donc pour effet de favoriser le retrait des composés phénoliques de la phase lipidique. Ces différences significatives vont permettre une meilleure conservation dans le temps des huiles issues d'un système à deux phases par rapport à celles obtenues par un séparateur à trois phases.

3.3.3.2 Analyse de la teneur en tocophérols

Si le fait d'ajouter de l'eau peut déplacer l'équilibre de partage des composés phénoliques entre l'huile et l'eau, il ne peut pas en être de même avec les tocophérols puisque ceux-ci sont uniquement liposolubles. Il n'est donc pas surprenant de ne pas trouver de différence significative entre les deux types d'huile (Tableau 21). Gimeno (2002) faisait la même observation et arrivait à la même conclusion pour le β -carotène qui est également un composé liposoluble.

Tableau 21 : Dosage des tocophérols en fonction du type de séparateur utilisé

	Centrifugeuse trois phases	Centrifugeuse deux phases
α -tocophérols (mg/kg)	192 \pm 24	174 \pm 12

Nous pouvons remarquer dans le tableau 22 que tous les composés phénoliques sont présents en plus grande quantité dans l'huile issue du système à deux phases. Cette observation vient confirmer le dosage des polyphénols totaux (3.3.3.1). Nous remarquons que ce sont surtout les concentrations en acides phénoliques et en petits composés phénoliques qui sont influencées par le type de séparateur. Les flavonoïdes sont également positivement influencés par le système à deux phases, mais dans une plus faible proportion. La polarité des acides phénoliques étant plus élevée que celle des flavonoïdes, leur partition entre la phase aqueuse et la phase lipophile se retrouve plus affectée par l'ajout d'eau dans le système à trois phases. Ces petits composés polaires sont lavés de l'huile et dilués dans les grignons humides et les margines.

Tableau 22 : Composition phénolique des huiles d'olive en fonction du type de centrifugeuse utilisé

Composé	Centrifugeuse trois phases (mg/L)	Centrifugeuse deux phases (mg/L)
Ac. Gallique	0,12 \pm 0,02	0,13 \pm 0,01
Tyrosol	1,40 \pm 0,21	3,13 \pm 0,21
Ac. Vanillique	0,19 \pm 0,01	0,54 \pm 0,01
Ac. p-coumarique	1,02 \pm 0,04	3,02 \pm 0,05
Ac. Ferulique	0,18 \pm 0,01	0,32 \pm 0,09
Lutéoline	3,47 \pm 0,13	5,17 \pm 0,68
Apigénin	1,66 \pm 0,11	2,03 \pm 0,12

3.3.3.3 Analyse de la composition en acides gras

La composition des huiles en acides gras n'est pas influencée par le type de séparateur utilisé (Tableau 23). Dans les deux cas nous retrouvons environ 73 % d'acide oléique, 14 % d'acide palmitique et 8 % d'acide linoléique. Ces concentrations correspondent aux valeurs trouvées précédemment (Ollivier, 2006).

Tableau 23 : Composition des huiles en acides gras en fonction du type de séparateur utilisé

Acide gras	Système trois phases (%)	Système deux phases (%)
C16:0	14,30 ± 0,34	13,99 ± 0,14
C16:1	1,38 ± 0,04	1,56 ± 0,02
C18:0	2,46 ± 0,20	2,43 ± 0,17
C18:1	72,47 ± 1,30	73,62 ± 0,61
C18:2	8,35 ± 0,33	7,33 ± 0,06
C18:3	0,64 ± 0,01	0,62 ± 0,16
C20:0	0,35 ± 0,01	0,36 ± 0,01
AGS	17,11	16,78
AGMI	73,85	75,18
AGPI	8,99	7,95
ω6/ω3	13,0	11,8

3.3.3.4 Analyse des arômes de l'huile d'olive

Tableau 24 : Composition de la fraction volatile des huiles en fonction du type de séparateur utilisé

Composé	TR	Système 3 phases (%)	Système 2 phases (%)
3-pentanone	7.044	4,22 ± 1,01	2,41 ± 0,27
1-penten-3-one	8.507	15,49 ± 1,70	18,20 ± 0,68
1-propanol	8.901	0,57 ± 0,07	0,47 ± 0,01
Hexanal	10.626	4,03 ± 0,66	5,08 ± 0,64
Isobutanol	11.128	0,61 ± 0,13	0,40 ± 0,03
1-penten-3-ol	13.567	4,70 ± 0,30	8,29 ± 0,07
3-methylbutan-1-ol	15.496	1,60 ± 0,19	1,73 ± 1,56
2-hexenal	15.809	40,39 ± 2,21	34,13 ± 0,54
2-penten-1-ol	19.556	8,29 ± 0,34	5,72 ± 0,21
Hexanol	20.714	1,71 ± 0,08	0,56 ± 0,07
3-hexen-1-ol	21.889	4,55 ± 0,24	2,93 ± 0,03
2-hexen-1-ol	22.661	2,79 ± 0,16	5,16 ± 0,16
2,4, hexadienal	22.960	4,63 ± 0,20	11,30 ± 0,22

TR : Temps de rétention

Le tableau 24 montre que les composés majoritaires dans les fractions volatiles des deux huiles sont le 2-hexenal et le 1-penten-3-one. La concentration de ce dernier est d'ailleurs relativement élevée ce qui pourrait entraîner une forte amertume et une sensation de piquant intense pour les deux huiles. Le 2-hexenal qui est le composé majoritaire dans les deux huiles est quant à lui associé aux sensations de « vert » ou d' « herbe fraîchement coupée » (Morales, 1997).

3.4 Conclusions sur l'enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive dans les moulins

Comme expliqué précédemment dans ce rapport, la présence ou l'absence d'eau dans un procédé est le principal facteur responsable de la teneur finale de l'huile d'olive en composés phénoliques et donc de sa qualité nutritionnelle. Cependant le fait de chercher à éliminer rapidement l'eau par centrifugation peut également présenter des inconvénients puisque cela provoque un déplacement de l'équilibre de partition des composés phénoliques entre la phase aqueuse et la phase lipidique. Une partie des composés phénoliques est ainsi retirée de l'huile et dilués dans l'eau ajoutée au système de production.

Le second facteur influençant fortement la teneur finale en composés phénoliques est le mode de broyage des olives. En effet, cette étude met en évidence que les systèmes de broyeurs à marteaux sont plus performants que les meules traditionnelles pour ce qui est d'extraire les composés phénoliques. Cela peut venir du fait que les procédés utilisés pour l'extraction de l'huile sont radicalement différents.

- Dans le cas des meules de granit, le poids de la roue va écraser les olives et donc déformer la structure cellulaire et sortir une partie de l'huile de cet amas cellulaire par exsudation. La rotation de ces roues de granit va également provoquer un déchirement de la structure cellulaire qui va également permettre la libération d'une certaine quantité d'huile. Outre le fait de libérer de plus faibles quantités de composés phénoliques, cette technique d'écrasement et de déchirement provoque la rétention d'une partie de l'huile d'olive dans les amas cellulaires, ce qui explique les rendements généralement plus faibles observés par ce type de procédé.

- Dans les systèmes à marteaux, la vitesse de rotation des bras métalliques et leurs arrêtes vives vont éclater les olives. Nous retrouvons ainsi des fragments de plus petite taille et des coupes franches au niveau de la structure cellulaire. Cela facilite la libération de l'huile d'olive et induit de meilleurs rendements de production. Le broyage plus fin de la chair des olives augmente également la libération des composés phénoliques de la structure cellulaire et donc leur présence dans l'huile.

Ces deux premières observations posaient un problème technologique puisque les moulins étaient équipés soit d'un système de broyage à meules traditionnelles qui pouvait permettre une décantation gravitationnelle en fin de procédé, soit d'un système de broyeur à marteaux mais suivi d'un séparateur à trois phases et d'une centrifugeuse verticale. Dans le premier système le facteur limitant pour l'optimisation de la teneur en composés phénoliques était le broyage, dans le second c'était la centrifugation finale. Le dernier système développé à grande échelle met en jeu un nouveau type de séparateur à deux phases. De plus en plus de moulins s'équipent avec ce type de centrifugeuse pour diverses raisons :

- tout d'abord parce que l'encombrement est limité donc le moulinier n'a pas besoin de beaucoup d'espace pour utiliser ce type d'appareil
- un système à deux phases possède l'avantage de supprimer une des étapes du procédé (la centrifugation verticale), ce qui réduit l'achat de matériel et donc d'autant le risque de problèmes liés à une panne éventuelle de ces machines
- ce système utilise moins d'eau, ce qui a deux conséquences : moindre coût de fonctionnement et réduction des volumes de coproduits (grignons et margines)

Le principal frein au développement de ce système à plus grande échelle se situe au niveau de la productivité de la technique par rapport aux systèmes à trois phases. En effet, le séparateur tournant moins rapidement dans le système à deux phases, la séparation met plus de temps à se réaliser et le débit horaire d'olives traitées se retrouve réduit. L'autre frein peut être la difficulté de réglage de l'appareil afin de conserver de bons rendements sans avoir des margines dans l'huile.

Cette étude vient compléter celle de Gimeno (2002) qui avait trouvé que le système de séparation à deux phases induisait une meilleure qualité nutritionnelle de l'huile d'olive

par rapport au système à trois phases. Les volumes d'eau réduits pour le fonctionnement de l'appareil permettent en effet une meilleure rétention des composés phénoliques dans la phase lipidique. Ce phénomène ne peut être observé que sur les composés phénoliques car ce sont ceux qui peuvent le plus facilement se retrouver dans la phase aqueuse. Les autres antioxydants tels que l' α -tocophérol et le β -carotène étant des composés très lipophiles, ils ne sont pas influencés par l'addition ou non d'eau, donc le système à deux phases n'apporte pas d'avancée sur ces molécules. Cette étude montre également que les différents procédés n'influencent pas la composition des huiles en acides gras ni leur acidité libre.