

# Enrichissement exogène de l'huile d'olive par ultrasons

Les techniques conventionnelles d'extraction ou d'isolation de composés chimiques de matrices végétales présentent souvent des contraintes telles que celles des faibles rendements, des temps d'extraction très longs, l'utilisation de grandes quantités de solvants. Ces dernières années de nombreuses techniques alternatives ayant pour but de pallier à ces problèmes se sont développées. Parmi elles émergent les micro-ondes, les fluides supercritiques ou les ultrasons. Les contraintes écologiques et l'émergence de la sécurité alimentaire et industrielle, incitent les professionnels à découvrir de nouvelles applications aux technologies innovantes. Toutes visent une performance accrue et un meilleur respect de l'environnement.

Les ultrasons de puissance sont maintenant bien connus pour avoir des effets significatifs sur la cinétique de certaines réactions chimiques ou encore sur la réduction du temps de procédés industriels. En effet la cavitation induite par les ultrasons de faibles fréquences dans les milieux liquides se traduit entre autres par des accélérations de cinétique et/ou des améliorations de rendement, notamment en ce qui concerne l'extraction solide-liquide. Au cours de ces travaux de thèse, des recherches sur le principe de fonctionnement des ultrasons ainsi que sur les applications dans les technologies d'extraction m'ont permis la rédaction d'un chapitre de livre « ultrasound assisted extraction of aromas and antioxidants » (Veillet, 2009c).

La production oléicole française a tendance à augmenter légèrement suite à l'arrivée de jeunes oliviers à maturation pour la production d'olives. Ainsi un nouveau record de production d'huile a été battu en France lors de la campagne 2008/2009. Si cela semble être un atout pour les producteurs, cela pose également des problèmes d'écoulement des stocks. Ils doivent ainsi trouver de nouveaux débouchés et donc diversifier leurs gammes de produits. C'est ainsi que l'on a vu apparaître de nouveaux produits tels que les huiles aromatisées avec des plantes telles que le thym, le romarin ou le basilic. L'inconvénient de ces aromatisations pratiquées en général par macération est qu'elles sont longues et nécessitent des zones de stockage importantes. Une aromatisation assistée par ultrasons a ici été testée afin de réduire ce temps d'aromatisation et de faciliter sa mise en place pour les professionnels de l'huile d'olive.

Depuis quelques années, de plus en plus d'attention est portée à la protection de l'environnement. En chimie cela passe par l'utilisation raisonnée des solvants et/ou si possible leur remplacement par des solvants de plus faible impact environnemental. Nous avons ainsi pu observer le développement de techniques utilisant des agro-solvants issus du recyclage des coproduits de l'industrie agroalimentaire (*d*-limonène,  $\alpha$ -pinène...). Nous avons choisi ici d'utiliser l'huile d'olive comme solvant d'extraction car ses caractéristiques doivent permettre d'extraire des molécules liposolubles ( $\beta$ -carotène, lycopène..). Un plan d'expérience a été réalisé afin de déterminer les conditions optimales d'extraction de  $\beta$ -carotène assistée par ultrasons dans l'huile d'olive à partir de poudre de carotte.

Ces deux études confirment que les ultrasons ont de nombreuses applications potentielles dans le domaine de l'agroalimentaire comme dans le domaine de la nutraceutique. Si de nombreuses études ont déjà été menées sur leurs effets, il reste beaucoup de secteurs à développer car les champs d'application des ultrasons ne sont pas encore pleinement explorés.

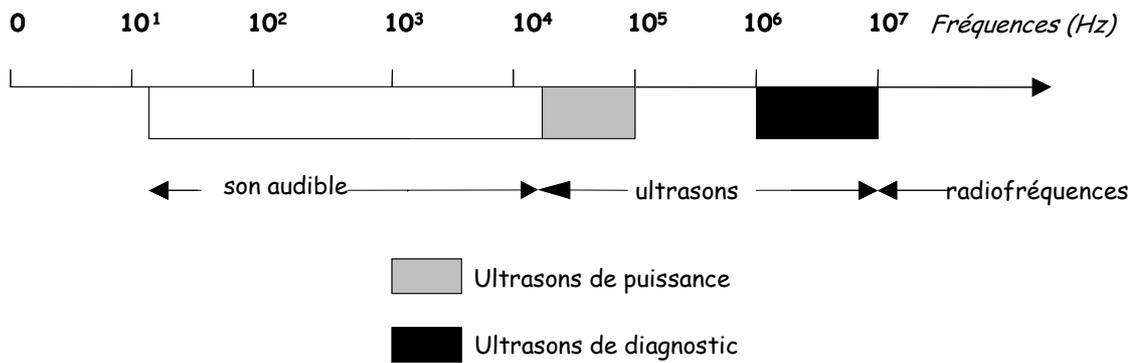
## 4.1 Les ultrasons

### 4.1.1 Principe et mécanisme de la cavitation ultrasonore

Les ultrasons sont des ondes mécaniques qui sont capables de se déplacer dans un milieu élastique à une fréquence supérieure à la limite maximale d'audibilité de l'oreille humaine (16 kHz) (Figure 40). Les ultrasons peuvent être divisés en deux catégories en fonction de leurs fréquences :

- Ultrasons de diagnostic : ces ultrasons sont aussi appelés ultrasons de basse intensité ou de haute fréquence (2 à 10 MHz). Les ultrasons constituent une méthode non destructive d'évaluation de propriétés physico-chimiques ou mécaniques, de mesures de concentrations, de mesures de niveaux, etc. Les applications sont nombreuses dans le domaine médical comme outil de diagnostic et de contrôle car leur utilisation est simple, efficace et autorise une visualisation en temps réels des organes comme le cœur sans effet ionisant ni destructif.

- Ultrasons de puissance, aussi appelés ultrasons de haute intensité ou de basse fréquence (20 kHz à 100 kHz). Ils sont appliqués à des domaines industriels variés comme le nettoyage des surfaces, la production d'émulsion, l'accélération de réactions chimiques en milieu hétérogène ou l'extraction d'arômes. Contrairement aux ultrasons de diagnostic, ces ultrasons sont capables de générer des bulles de cavitation.



**Figure 40** : Domaines d'utilisation des Ultrasons en fonction de la fréquence

Plusieurs effets peuvent être attribués à l'utilisation des ultrasons de puissance tels que le déplacement des molécules de liquide autour de leur point d'équilibre ou les déplacements convectifs appelés vents ultrasonores. Lorsque des ultrasons se propagent à travers un liquide, les oscillations des molécules provoquent la formation de zones de compression et de dépression (Figure 41).

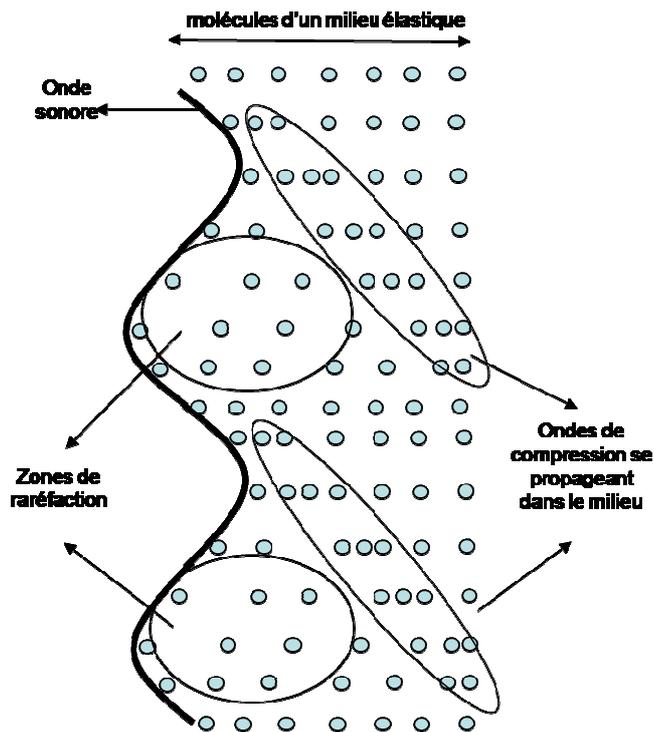
Les séries de compressions et de raréfactions générées lorsque l'onde sonore traverse le milieu créent une pression acoustique (Pa) dans le milieu définie comme suit :

$$P_a = P_A \sin 2\pi f t \quad \text{Equation 4}$$

Avec  $P_A$  pour l'amplitude maximale de la pression de l'onde sonore,  $f$  la fréquence des ultrasons et  $t$  le temps. L'amplitude de la pression de l'onde est directement liée à l'intensité de celle-ci. Cette intensité est définie comme l'énergie transmise par seconde et par mètre carré de liquide et est définie comme suit :

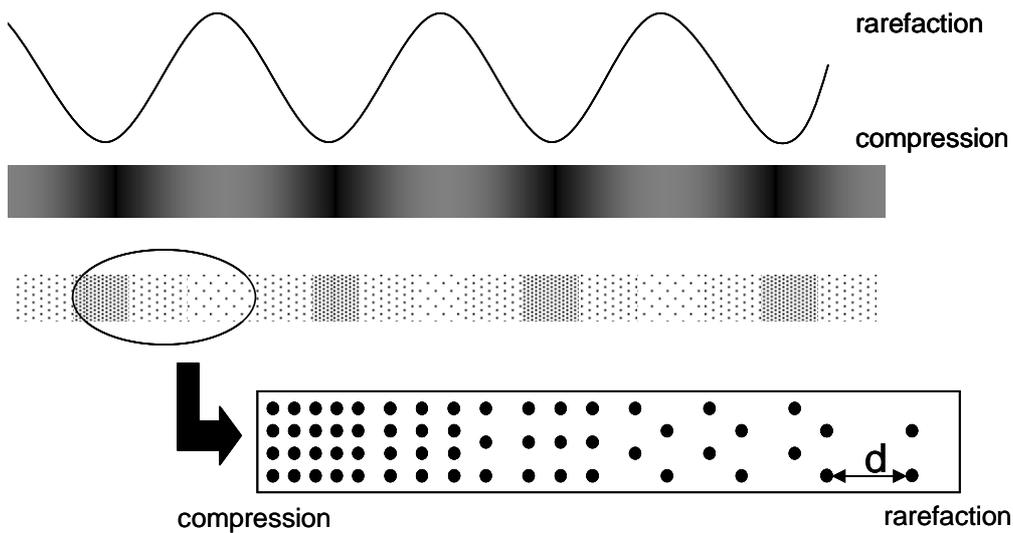
$$I = P_A^2 / 2\rho c \quad \text{Equation 5}$$

Avec  $\rho$  pour la densité du milieu et  $c$  pour la vitesse du son dans le milieu d'étude.



**Figure 41 :** Propagation de l'onde sonore dans un milieu

La pression acoustique est positive pendant les cycles de compression et négative pendant les cycles de raréfaction. Ces variations de pression entre phases de compression et de raréfaction impliquent des mouvements moléculaires induisant des distensions et des rapprochements entre des groupes de molécules. Lors de cycles de raréfaction la distance  $d$  augmente (Figure 42)



**Figure 42 :** Cycles de compression et de raréfaction induits par une onde sonore

Chaque milieu liquide a une distance moléculaire critique (distance critique  $d$  sur Figure 42) : au dessous de cette distance le liquide reste intacte, mais au dessus de ce seuil caractéristique, les forces maintenant la cohésion du liquide sont vaincues et des bulles de cavitation contenant de la vapeur du liquide et des gaz dissous apparaissent. Ce phénomène, appelé cavitation, a été étudié de manière théorique et expérimentale. Neppiras et Noltingk (1950) ont initié la théorie du point chaud selon laquelle l'implosion d'une bulle de cavitation génère des valeurs locales de température et de pression très élevées (milliers de degrés Kelvin et milliers de kPa). Cette théorie a ensuite été reprise par Suslick (1988). Le comportement des bulles dépend de leur taille et de la nature du champ ultrasonore local qui détermine leur stabilité ou leur implosion.

#### 4.1.2 Facteurs influençant la cavitation

- Présence de gaz dissous : les bulles de cavitation peuvent être constituées de vapeur du liquide dans lequel elles sont générées. La cavitation prend naissance à partir de noyaux qui sont constitués par les occlusions gazeuses au sein du liquide. La présence de gaz dissous favorisera donc le phénomène de cavitation.
- Pression du milieu : les bulles de cavitation peuvent être générées lorsque la pression appliquée au milieu ( $P_L$ ) descend au dessous de la tension de vapeur de ce liquide ( $P_v$ ). La pression appliquée au milieu quand celui-ci est soumis aux ultrasons peut être calculée comme étant la somme de la pression hydrostatique ( $P_h$ ) et de la pression acoustique (Equation 6). Par conséquent la cavitation sera possible dans le liquide si la tension de vapeur du liquide est supérieure à la somme de la pression hydrostatique et la pression acoustique (Equation 7). Cela signifie que plus la pression appliquée au milieu sera élevée, plus il sera difficile de provoquer de la cavitation. En effet, pour la provoquer il faudra augmenter la pression acoustique et donc augmenter l'intensité des ultrasons.

$$P_L = P_h + P_a \quad \text{Equation 6}$$

$$P_v > P_h + P_a \quad \text{ou} \quad P_a > P_h - P_v \quad \text{Equation 7}$$

- Intensité des ultrasons : comme décrit dans l'équation 5, il y a une relation directe entre intensité des ultrasons et l'amplitude de la pression de l'onde sonore qui est

elle corrélée à la pression acoustique (Equation 4). La pression acoustique étant un paramètre clé dans la génération des ultrasons, plus l'intensité des ultrasons sera élevée plus facilement la cavitation pourra se faire.

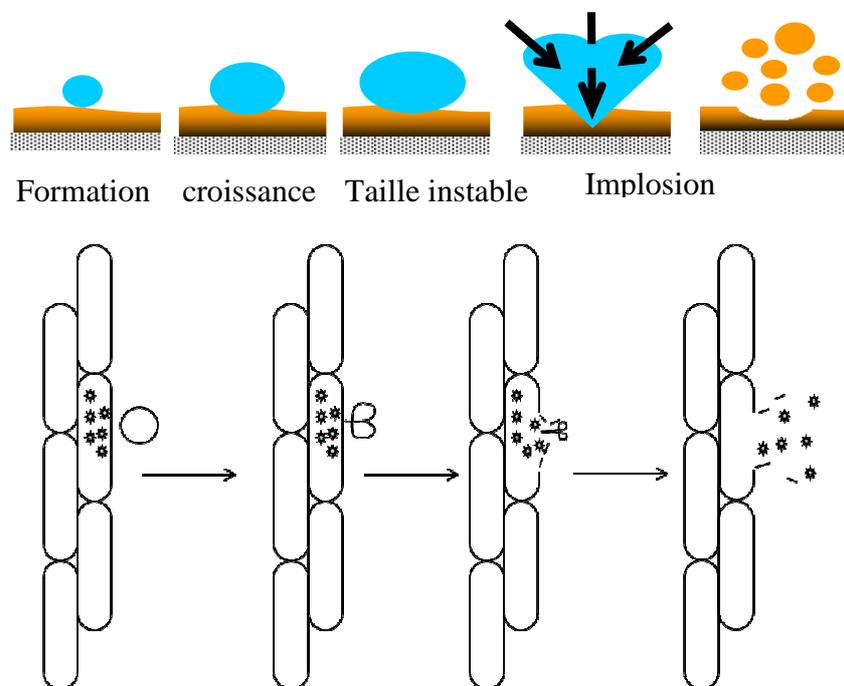
- Fréquence des ultrasons : les fréquences le plus couramment utilisées sont entre 20 et 40 kHz. De plus haute fréquences rendent plus difficile la cavitation. En effet, les bulles de cavitation ont besoin d'un petit laps de temps pour être générées pendant la phase de raréfaction. Plus la fréquence est élevée, plus les phases de raréfaction sont courtes donc moins la bulle a de chance d'être créée. C'est la raison pour laquelle les ultrasons de haute fréquence sont dits non destructeurs ; la fréquence est trop élevée pour pouvoir permettre la cavitation.
- Température : l'importance de ce paramètre est difficile à évaluer car très complexe. En effet elle modifie la viscosité du milieu et la pression de vapeur saturante ce qui peut influencer la capacité de cavitation du milieu d'étude. Plus l'on se rapproche du point d'ébullition du liquide, plus les bulles de cavitation vont être générées facilement mais elles perdent leur capacité d'implosion c'est pourquoi la majorité des réactions sonochimiques sont favorisées par de faibles températures.
- Impuretés : chaque impureté présente dans le liquide ou à la surface de la verrerie utilisée peut agir comme un nouveau site de cavitation. En effet, des gaz peuvent être emprisonnés dans les interstices des impuretés et les dépressions générées par les cycles de raréfaction vont déloger ces gaz de l'impureté et constituer un nouveau noyau de cavitation.

Les différentes conditions expérimentales vont produire différents types de bulles de cavitation. Certaines sont dites stables, les autres sont dites transitoires. Les bulles transitoires n'existent que pendant quelques cycles acoustiques avant d'imploser violemment. Sachant que la durée de vie de telles bulles est trop faible pour observer un transfert de matière par diffusion de gaz vers l'intérieur ou l'extérieur de la bulle, leur implosion ne se trouve pas amortie et procède d'une grande violence. Selon Mason et Lorimer (2002), on peut ainsi atteindre des températures voisines de 5000 K et des pressions de l'ordre de 1000 atmosphères (Tableau 25). Les bulles de cavitation stables sont des bulles de gaz et de vapeur qui oscillent de manière non linéaire autour d'une taille de pseudo-équilibre pendant un bien plus grand nombre de cycles. A chaque cycle, leur volume augmente car le bilan des échanges entre les phases de désorption et de condensation

(entrée dans la bulle) et celles d'absorption et de vaporisation (sortie de la bulle) est positif. La bulle implose alors lorsqu'elle atteint une taille critique. Cette implosion est moins violente car elle est amortie par les gaz présents et les températures atteintes alors se situent aux alentours de 1800 K.

**Tableau 25** : Caractéristiques et effets des ultrasons selon le type de cavitation induit

Type de cavitation	Stable	Transitoire
Intensité	1 à 3 W/cm <sup>2</sup>	> 10 W/cm <sup>2</sup>
Type d'oscillations	faibles et autour de l'équilibre	Fortes
Cycle	plusieurs cycles	1 à 2 cycles
Durée de vie des bulles	Longue	Courte
Phénomène local	simple diffusion gaz/liquide mais risque de résonance	températures et pression très élevées
Nature de la bulle	gaz résiduel ou vapeur du liquide environnant	vapeur du liquide seulement
Effet	à court terme : dégazage à long terme : mélange	violents : érosion, émulsification, sonochemie, sonoluminescence

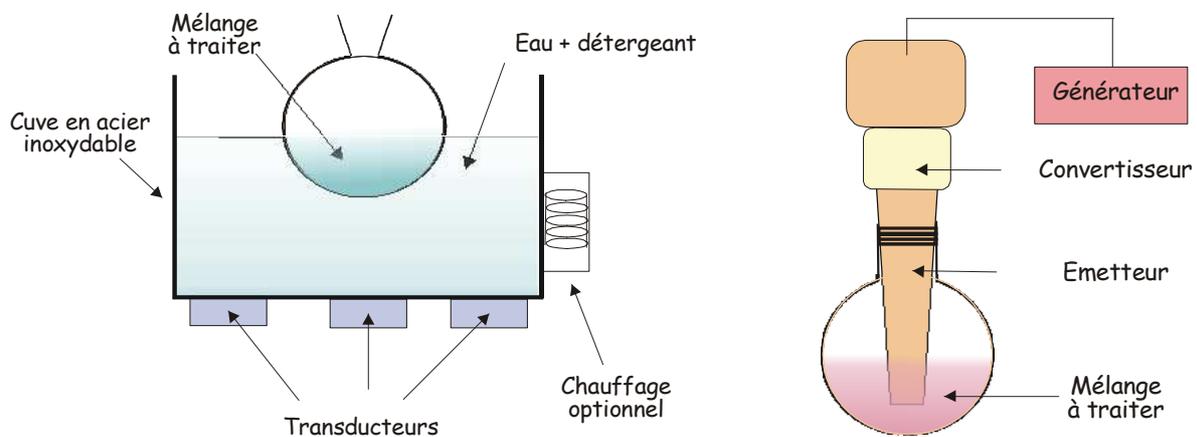


**Figure 43** : Evolution d'une bulle de cavitation à proximité d'une surface solide (a) et d'une cellule végétale (b)

Les ultrasons ont des actions mécaniques et physiques, notamment lors de l'explosion des bulles de cavitation. La présence d'un obstacle adjacent provoque la perte de symétrie du système par rapport à une implosion au sein de la solution (Figure 43). Le principal effet physique et mécanique des ultrasons est alors la production de micro-jets dirigés vers une surface solide lors de l'implosion des bulles de cavitation.

Ces micro-jets peuvent atteindre des vitesses considérables (plus de 120 m/s) et ils pourraient avoir une influence prépondérante dans les effets induits par la cavitation et dans l'augmentation de l'agitation à l'interface obstacle/milieu réactionnel. En plus de leurs effets mécaniques et physiques, les ultrasons produisent des effets chimiques qui résultent également du phénomène de cavitation. Lorsqu'une solution aqueuse est soumise aux ultrasons, des radicaux libres peuvent être générés et initier des réactions en chaînes. Ces entités peuvent ensuite réagir avec des espèces en solution ou se recombinaison pour former de l'hydrogène, de l'eau oxygénée ou d'autres radicaux. Si la nature des espèces chimiques est fortement dépendante des gaz dissous, la fréquence influence considérablement la cinétique de réactions.

#### 4.1.3 Equipements de laboratoires et industriels



**Figure 44** : Schéma de dispositifs à ultrasons : bac et sonde

Deux types d'équipements sont couramment utilisés dans les laboratoires. Le premier est le bac à ultrasons qui est peu onéreux et trouve de nombreuses applications pour la préparation d'échantillons, l'homogénéisation, la dispersion, le dégazage et le nettoyage (Figure 44). Il génère des fréquences comprises entre 25 et 50 kHz et des puissances acoustiques de 1 à 5 W.cm<sup>-2</sup>. Ce type d'instrumentation possède l'avantage d'être simple à

utiliser mais nécessite l'emploi d'un contenant pour le mélange à traiter qui va agir comme amortisseur de l'effet des ultrasons qui ne pourront agir que de manière indirecte. Le second appareillage est la sonde à ultrasons. A la différence du bac, elle permet une irradiation directe du milieu tout en générant des puissances acoustiques nettement supérieures (plus de 100 fois plus élevées). Cependant, son utilisation reste seulement adaptée au traitement de petits volumes de liquide et une attention particulière doit être portée à ce type de manipulation car l'échantillon peut subir une augmentation rapide de température. Le couplage de ces deux types d'appareillage à des systèmes de pompes permet un travail en mode continu car cela favorise la circulation ininterrompue de solvant « frais » à travers l'échantillon soumis aux ultrasons.



**Figure 45 :** (A) réacteur d'extraction assistée par ultrason de 3L, (B) équipement à l'échelle pilote : cuve de 50 L et (C et D) équipement à l'échelle industrielle : cuves de 500 et 1000 L

Les systèmes industriels sont communément utilisés en combinaison avec des cuves tampon de grande capacité et des pompes (traitement en ligne) ou mode en batch avec des cuves équipées. Ces dernières sont utilisées depuis quelques années pour l'extraction de composés aromatiques de végétaux afin d'accélérer la macération.

Une gamme de nouveaux appareillages a été développée par la société REUS (France) (Figure 45). Celle-ci va de l'équipement de laboratoire (0,5 à 3 L) à des modèles industriels (1000 L) en passant par des modèles pilotes (30 et 50 L). L'appareillage de laboratoire génère une puissance ultrasonore d'environ 1 W/cm<sup>2</sup>, la fréquence d'utilisation est de 25kHz. Les autres spécificités de ce réacteur sont de posséder un système de double enveloppe permettant de thermostatier le système et la possibilité de travailler directement dans le réacteur induisant l'application directe des ultrasons sur le mélange réactionnel.

#### 4.1.4 Applications des ultrasons

La diversité des appareillages et des actions des ultrasons permet une large gamme d'applications. Dans le domaine de l'agroalimentaire celles-ci peuvent être de l'ordre de la transformation, de l'extraction ou encore de la préservation des produits alimentaires (Mason, 2003).

##### 4.1.4.1 Les ultrasons en technologie de transformation

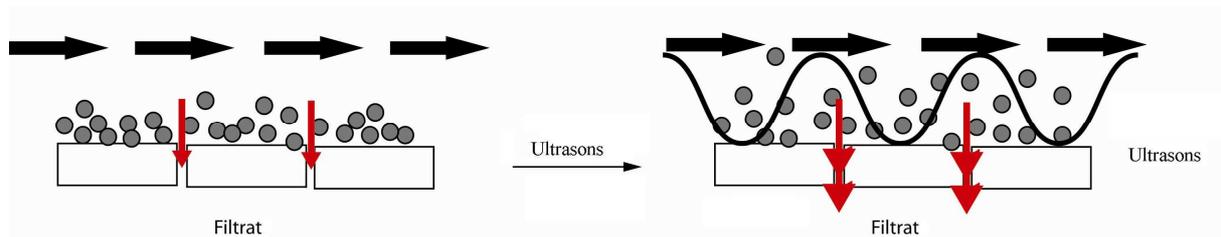
Les ultrasons de puissance génèrent d'intenses forces de pression et de cisaillement ainsi que des forts gradients de température dans le milieu traité. Cette action physique intense des ultrasons permet de déstructurer la matière et/ou induire des réactions chimiques ou biochimiques. L'énergie ultrasonore résultante peut ainsi améliorer les transferts de chaleur, de matière ou bien de quantité de mouvement. Dans de nombreuses applications, la technologie des ultrasons possède des avantages considérables par rapport aux autres technologies conventionnelles. Les ultrasons améliorent le rendement réactionnel, les qualités organoleptiques ainsi que les propriétés visuelles du produit agroalimentaire final destiné à la consommation humaine. Plusieurs exemples de transformation des aliments assistés par ultrasons sont résumés dans le tableau 26.

**Tableau 26** : Applications des ultrasons dans les technologies de transformation

Procédé	Méthode conventionnelle	Principe des ultrasons	Apport des ultrasons	Produits
Découpage	Lames et couteaux	Phénomène de la cavitation	Gain de temps, pas de perte de matière, découpe précise, répétitive	Produits fragiles, hétérogènes
Marinage	Bain de saumure	Les vibrations ultrasoniques facilitent le transfert en saumure uniformément reparti dans le produit	Gain de temps, gain de matière, amélioration du transfert de matière	Légumes, viande, poisson
Séchage/ déshydratation	Atomisation, Air chaud, Congélation	Les vibrations permettent un transfert de chaleur uniforme au sein du produit	Gain de temps, amélioration des qualités organoleptiques	Aliments déshydratés (fruits, végétaux)
Emulsification	Agitation mécanique	Le phénomène de cavitation réduit le diamètre des gouttes	Stabilité des émulsions, gain de temps	Tout type d'émulsion (mayonnaise)
Filtration	Filtres à membrane semi-perméable	Vibration ultrasoniques au contact des fibres	Gain de temps, amélioration de la filtration	Tout type de liquide (jus de fruit...)

Un exemple d'application est la filtration ; elle est utilisée dans l'agroalimentaire pour enlever les particules solides contenues dans un liquide comme c'est le cas dans les jus de fruits. Deux produits en découlent : le rétentat (constituant la partie retenue par la membrane) et le filtrat (partie filtrée). Cependant, les filtres sont souvent obstrués au bout d'une certaine durée d'utilisation et nécessitent d'être changés régulièrement. Les ultrasons améliorent considérablement la filtration et permettent d'augmenter la durée d'utilisation des filtres. Le phénomène de la filtration assistée par les ultrasons est basé sur la libération rapide des pores du filtre en évitant l'agglomération des fines particules. Les vibrations ultrasonores permettent au rétentat d'être partiellement en suspension au dessus du filtre,

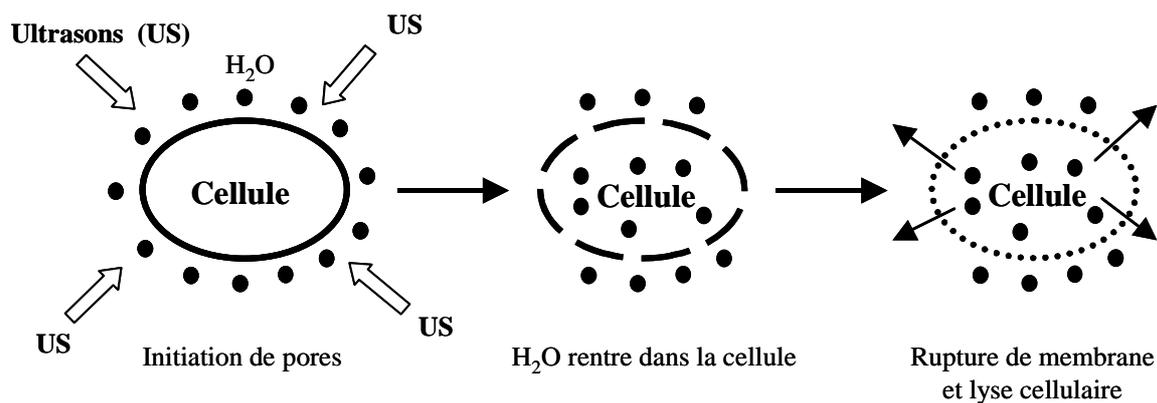
ainsi les pores ne sont pas obstrués (Figure 46). Les rendements de la filtration assistée par ultrasons sont élevés par rapport à la filtration conventionnelle (Mason, 2010).



**Figure 46** : Avantage de la filtration assistée par ultrasons

#### 4.1.4.2 Les ultrasons en technologie de préservation

Il existe plusieurs exemples de microorganismes inactivés par ultrasons et étudiés dans des milieux de cultures de laboratoire et au sein de modèles alimentaires. Les cellules bactériennes ont chacune des sensibilités différentes aux traitements ultrasoniques. De manière générale, les plus grandes cellules sont plus sensibles aux ultrasons. Cela est peut-être dû au fait que les grandes cellules ont une plus grande surface les rendant plus vulnérables aux fortes pressions produites pendant la cavitation acoustique. Les cellules Gram positifs paraissent être plus résistantes que les Gram négatifs ; cela est peut-être dû à la structure de la paroi cellulaire. Les cellules Gram positifs ont des parois plus épaisses qui procurent à la cellule une certaine protection contre le traitement ultrasonique (Mason *et al.* 2003). La cavitation produit de fortes températures et pressions localisées qui désintègrent toutes les cellules biologiques et/ou dénaturent toute enzyme présente. L'implosion des bulles produit des forces de cisaillement et des jets de liquides dans le milieu qui pourraient avoir suffisamment d'énergie pour endommager physiquement les parois cellulaires. L'inactivation par ultrasons a aussi été attribuée à la génération de cavitation intracellulaire pouvant perturber la structure cellulaire et les composants fonctionnels jusqu'à atteindre la lyse cellulaire (Figure 47).



**Figure 47 :** Mécanisme de dommage cellulaire par ultrasons

#### 4.1.4.3 Les ultrasons en technologies d'extraction

L'utilisation des ultrasons pour l'extraction sur les matrices végétales ou alimentaires est un nouvel outil permettant d'augmenter les rendements ou/et d'accélérer les cinétiques d'extraction. Ces améliorations peuvent être attribuées à l'amélioration de la diffusion des substances dissoutes de l'intérieur de la cellule vers le milieu d'extraction. Les premières applications ont été liées à la détermination des métaux dans les aliments. Les applications couvrent aujourd'hui l'extraction de nombreux autres composés comme les arômes, les antioxydants, les huiles et les colorants (Chemat, 2009).

- **Extraction des huiles essentielles et des arômes**

Les arômes et senteurs sont des mélanges complexes de composés volatiles qui sont généralement présents en faible concentration dans les plantes aromatiques. Ces concentrations sont variables en fonction de la plante considérée et de la partie de la plante (fleur, feuille, tige, racine...). Les techniques conventionnelles d'extraction de molécules aromatiques sont souvent longues et posent un réel problème pour l'extraction de molécules thermosensibles puisque le plus souvent ces extractions se font par hydrodistillation ou par entraînement à la vapeur. En plus d'être longues et destructives pour les molécules sensibles, ces techniques sont également coûteuses car il faut porter puis maintenir à ébullition de grands volumes d'eau pendant de longues périodes. La technologie ultrasonore permet de pallier à certains de ces problèmes et est par conséquent de plus en plus utilisée (Tableau 27).

**Tableau 27** : Extraction assistée par ultrasons de saveurs et arômes

Matrice	Analytes	Conditions d'extraction
Brandy et vin rouge	Composés aromatiques	US, 20 °C, 3-étapes d'extraction CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> . TS : 3x10 min. valeurs moyennes (µg/L) : 291 (linalol), 248 (α-terpinéol), 397 (citronellol).
Graines de carvi	Carvone & Limonène	US, 20 kHz, 150 W, 20 °C, <i>n</i> -hexane. TS: 60 min. Rd (mg/g): 17 (carvone) 16 (limonène).
Vanille	Vanilline	US, 20 kHz, 750 W, 25 °C, EtOH or EtOH/H <sub>2</sub> O. TS: 1 - 2 min.
Safran	Safranal	US, 35 kHz, 25 °C, H <sub>2</sub> O : Et <sub>2</sub> O. TS: 5x10 min. Rd : Safranal entre 40.7 and 647.7 mg/100g safran
Miel	Composés aromatiques	US, 25 °C, H <sub>2</sub> O, <i>n</i> -pentane : Et <sub>2</sub> O, TS : 2x10 min.
Moût de vin	Composés aromatiques	US, 48 kHz, 20 °C, 3-étapes d'extraction avec CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> . TS : 3x10 min.

- Vin et spiritueux : la composition du vin dépend de nombreux facteurs tels que la région de production, le sol, le climat et les pratiques pour la préparation du vin. L'extraction assistée par ultrasons des composés aromatiques du vin a été comparée à l'extraction en phase solide et en immersion en phase solide (Cabredo-Pinillos, 2006 ; Pena, 2005). L'extraction par ultrasons permet de meilleurs rendements en un temps réduit et 37 composés aromatiques ont pu être quantifiés dans le vin grâce à cette technique.
- Huile essentielle : l'extraction assistée par ultrasons a été utilisée sur de nombreuses variétés de plantes aromatiques telles que les feuilles de menthe, l'artémise ou la lavande (Da Porto, 2009 ; Asfaw, 2005 ; Shotipruk, 2001). Les rendements en huile essentielle ont pu être légèrement augmentés pour l'artémise et la menthe (12 % pour ce dernier), quant à la lavande, des quantités deux à trois fois supérieures ont été obtenue par utilisation des ultrasons. Le second avantage des ultrasons pour l'extraction de l'huile essentielle est le fait de travailler à froid, ce qui réduit la dégradation des composés volatiles. Cet aspect est très intéressant pour les secteurs de la nutraceutique et de l'agroalimentaire car dans les deux cas des huiles très pures sont nécessaires.

- Epices : concernant les épices on peut citer l'extraction de vanilline à partir de gousses de vanille. Les rendements en vanilline étaient similaires après 1 h d'extraction assistée par ultrasons et 8 h d'extraction conventionnelle (Jadhav, 2009). La carvone peut également être extraite des graines de carvi de façon plus pure lors d'une extraction aux ultrasons (pas de présence de matières grasses comme dans l'extraction classique par Soxhlet) (Kanakis, 2004).

#### - Extraction des antioxydants

Les antioxydants sont capables de piéger les radicaux libres et ils peuvent donc protéger les aliments de la peroxydation lipidique qui est l'une des causes de la détérioration des produits alimentaires. Les fruits et légumes sont connus pour être riches en ces antioxydants et sont par conséquent intéressants dans un but nutritionnel mais ils peuvent aussi bien l'être dans un but de préservation des aliments. Dans l'industrie agroalimentaire, de plus en plus d'attention est portée au recyclage des coproduits, eux-mêmes source intéressante d'antioxydants. Comme pour les arômes, l'extraction assistée par ultrasons des antioxydants peut être un outil avantageux dans le but d'optimiser le rendement et la pureté des extraits (Tableau 28).

- Fruits et légumes : grâce à la richesse en antioxydants de ces matrices, de nombreux essais ont été menés sur différentes plantes et différentes parties de chaque plante. L'extraction assistée par ultrasons permet notamment de réduire grandement le temps d'extraction des antioxydants. C'est le cas pour l'extraction du lycopène de la tomate, des anthocyanes de la framboise (3 min comparé à 53 min) ou encore pour les composés phénoliques de la fraise (2 min comparé à 20 h) (Liangfu, 2008 ; Chen, 2007 ; Herrera, 2005). L'action des ultrasons peut différer en fonction de la partie de la plante étudiée, ainsi ils sont plus intéressants pour extraire des composés des pépins de raisin que sur le fruit entier (Palma, 2002). Les ultrasons permettent une meilleure diffusion du solvant dans les pépins ce qui augmente l'extraction de l'acide malique et de l'acide tartarique.

**Tableau 28** : Extraction assistée par ultrasons d'antioxydants

Matrice	Analytes	Conditions d'extraction
Peaux de citron	Composés phénoliques	Bain US, 60kHz, 15 et 40°C dans méthanol. Plus grand des quantités avec US, les basses températures permettent un meilleur rendement
Noix de coco	Composés phénoliques	Bain US, 25 kHz, 150 W, 30°C. 22.44 mg de composés phénoliques extraits par gramme de noix de coco
Raisin et pépins de raisin	Acides tartarique et malique	Sonde US, 24 kHz, 200 W, 70°C. 194.3 ppm d'acide tartarique et 37.4 ppm d'acide malique. US plus efficaces sur pépins que sur le fruit
Feuille d'olivier	Oleuropéine	Sonde US, 20 kHz, 450 W, 40°C. Même quantité d'oleuropéine après 25 min d'extraction par US que 24h par méthode conventionnelle
Fraise	Composés phénoliques	Sonde US, 20 kHz, 100 W. Même efficacité en 2 min que 20 h par technique conventionnelle ou 3 h au CO <sub>2</sub> supercritique
Framboise	Anthocyanes	Sonde US, 22 kHz, 650 W, 40°C. Même rendement après 200 sec avec US que 53 min par méthode conventionnelle
Romarin	Acide carnosique	Sonde et bain US, 20 kHz, 50°C. 15mg d'acide carnosique par gramme de feuille. Réduction de la dépendance au solvant d'extraction
Tomate	Lycopène	Bain US, 40 kHz, 300 W. 90% du lycopène total extrait en 29 min, amélioration avec couplage micro-ondes
Son de blé	Composés phénoliques	Bain US, 40 kHz, 250 W, 60°C. 3.12 mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait

- Feuilles : les antioxydants ne sont pas simplement présents dans les fruits, mais ils peuvent également être présents dans les feuilles des plantes aromatiques ou encore dans les feuilles de certains arbres. L'une des plantes

les plus étudiées est le romarin, à la fois pour ses propriétés organoleptiques et pour son activité antioxydante. Les ultrasons permettent non seulement d'augmenter le rendement de l'extraction mais rend celle-ci moins dépendante du solvant : on peut donc obtenir les mêmes extraits en utilisant des solvants moins dangereux pour l'environnement lorsque l'on utilise des ultrasons (Albu, 2004). L'oleuropéine peut également être extraite des feuilles d'olivier et l'utilisation des ultrasons permet d'obtenir le même rendement en 25 minutes qu'après 24 h de macération classique (Japon-Lujan, 2008).

- Divers : les coproduits de l'industrie des jus de fruits ne sont pas seulement intéressants pour leur richesse en huiles essentielles, mais des composés phénoliques peuvent aussi être extraits des peaux d'agrumes (Ma, 2009). Dans cette étude, les ultrasons ont permis de réduire le temps d'extraction et l'augmentation de la quantité de composés phénoliques extraits est justifiée par son auteur comme étant due aux plus faibles températures d'extraction utilisées. Cette faible température est particulièrement intéressante lors de l'extraction des antioxydants car ces molécules sont thermosensibles. D'autres bons rendements d'extraction de composés phénoliques ont été trouvés à partir ce coque de noix de coco et de son de blé montrant la largeur de gamme d'applications potentielles des ultrasons (Rogrigues, 2008 ; Wang, 2008).

#### 4.1.5 Réglementation et sécurité

Les outils de gestion de la qualité dans les industries chimiques ou agroalimentaires prennent de plus en plus d'importance afin d'assurer un produit sûr dans des conditions de travail appropriées. Diverses méthodes existent pour identifier l'apparition des risques qui peuvent se produire (Mortimore *et al.* 1994). Les concepts d'analyse des risques et l'étude des points critiques (HACCP) et de l'analyse des risques et d'opérabilité (HAZOP) sont employés pour garantir la sécurité alimentaire et pour optimiser l'efficacité et la gestion des risques liés à la fabrication, aux personnes et à l'environnement.

Dans l'industrie chimique, il est commun d'adapter le processus de fabrication afin d'y introduire une technologie nouvelle telle que les ultrasons. A l'inverse dans l'industrie agroalimentaire, l'image du produit, l'étendue du marché et les risques alimentaires sont tels

que c'est la technologie innovante qui doit s'adapter au processus de fabrication et au delà à toute la chaîne de l'usine. La conception d'un procédé agroalimentaire assisté par ultrasons doit être basée sur les concepts de l'HACCP et de l'HAZOP. Il faut noter que ce sont des étapes importantes dans l'approbation des produits et des procédés alimentaires par les organismes de normalisation et de certification. Une des exigences majeures pour un programme de sécurité alimentaire est qu'il doit être basé sur les principes de l'analyse du risque et l'étude des points critiques, comme mentionné dans l'édition courante du *Codex Alimentarius*.

- Analyse des risques et étude des points critiques (HACCP)

La méthode HACCP a été mise au point dans les années 1960 par la compagnie Pillsbury pour la NASA dans le cadre d'un programme spatial concernant la sécurité alimentaire des astronautes lors des premières missions habitées dans l'espace. Dans l'industrie agroalimentaire, cette méthode a été appliquée pour la première fois aux aliments appertisés, puis, elle s'est étendue à tous les secteurs de l'agroalimentaire. Le système HACCP et les directives de son application ont été définis par la Directive 43/93/CEE du 14/06/1993. La démarche HACCP est basée sur les sept principes suivants :

**Principe 1 :** Analyse des dangers à tous les stades de la vie des produits.

**Principe 2 :** Détermination des points critiques (Critical Control Point : CCP) à maîtriser.

**Principe 3 :** Détermination des limites critiques pour chaque CCP.

**Principe 4 :** Elaboration d'un système de surveillance pour la maîtrise des CCP.

**Principe 5 :** Détermination et mise en place des mesures correctives lorsque la surveillance révèle qu'un danger n'est pas maîtrisé.

**Principe 6 :** Définition et application des procédures de vérification et de validation du système HACCP.

**Principe 7 :** Constitution d'un système documentaire et d'enregistrements.

- Analyse des risques et d'opérabilité (HAZOP)

La méthode HAZOP a été utilisée et développée principalement dans l'industrie chimique et l'industrie pétrolière. L'analyse HAZOP a été conçue pour contrôler les risques identifiables encourus par les personnes, les schémas de procédés et l'environnement. La

technique a été conçue dans le but d'optimiser au maximum le procédé afin d'obtenir un meilleur rendement. La finalité de l'étude permet de fournir une liste de points et recommandations pour la prévention de chaque problème. La démarche HAZOP est basée sur les huit principes suivants :

**Principe 1 :** Identifier les conditions de risques et les problèmes d'efficacité liés aux opérations.

**Principe 2 :** Etablir des actions correctives pour prévenir les conditions de risques et les problèmes d'efficacité.

**Principe 3 :** Mettre en place des actions correctives pour modifier la procédure utilisée dans l'opération.

**Principe 4 :** Etablir une procédure de pilotage pour vérifier l'efficacité de l'action corrective.

**Principe 5 :** Etablir un programme d'entraînement du personnel.

**Principe 6 :** Etablir un système d'enregistrement de données effectives.

**Principe 7 :** Etablir une procédure de contrôle pour vérifier l'efficacité de l'action corrective.

**Principe 8 :** Mettre à jour un schéma du procédé avec les actions correctives.

Ces deux techniques d'analyse de risque ont permis de mettre en évidence les principaux points critiques de l'utilisation des ultrasons dans l'industrie. Ceux-ci se situent au niveau de la corrosion des appareils, des résidus de sonde ou encore au niveau des risques électriques liés aux hautes tensions utilisées par les appareils à ultrasons. Des panneaux d'avertissement appropriés doivent être mis en place, les opérations d'entretien doivent être décrites précisément et chaque ouvrier doit être formé en fonction des tâches précises qui lui sont attribuées. Le port de protections auditives et de gants est également rendu obligatoire afin de protéger tous les membres du personnel (Chemat, 2004).

#### 4.1.6 Coût, investissement et impact environnemental

En général, un procédé d'extraction assisté par ultrasons possède un optimum compris entre 15 et 30 minutes de traitement à température ambiante, alors que les extractions conventionnelles (macération, distillation...) sont très longues et/ou réalisées à la température d'ébullition de solvant pendant plusieurs heures. Pour un réacteur de 1 litre, la consommation énergétique de l'extraction conventionnelle est de 5 kilo Watt heure alors que l'extraction assistée par ultrasons ne nécessite que 0.25 kW h. Les essais ont été réalisés à l'aide d'un Wattmètre à l'entrée du système de chauffage pour l'extraction conventionnelle et

à l'entrée du générateur à ultrasons pour l'extraction assistée par ultrasons. Ceci se répercute directement sur l'impact environnemental du procédé. Alors que le procédé d'extraction par US ne dégage que 200 g de CO<sub>2</sub> dans l'atmosphère, le procédé conventionnel en rejette plus de 4000 g de CO<sub>2</sub>. Ceci a été calculé selon la règle que pour obtenir un kWh d'électricité, il faut brûler soit du gaz naturel, du pétrole ou du charbon, et ça en résulte un dégagement de 800 g de CO<sub>2</sub>.

Les prix des réacteurs à ultrasons industriels varient entre 7000 euros (3 litres) et 200 000 euros (1000 litres). Le choix dans un réacteur à ultrasons n'induit que 25% d'investissement en plus par rapport à un réacteur conventionnel. Mais si on prend en compte les temps du procédé qui sont divisés par un facteur allant de 10 à 100, et une diminution énergétique et de pollution d'un facteur de 10, les procédés assistés par ultrasons ont un coût de production bien inférieure par rapport aux procédés conventionnels.

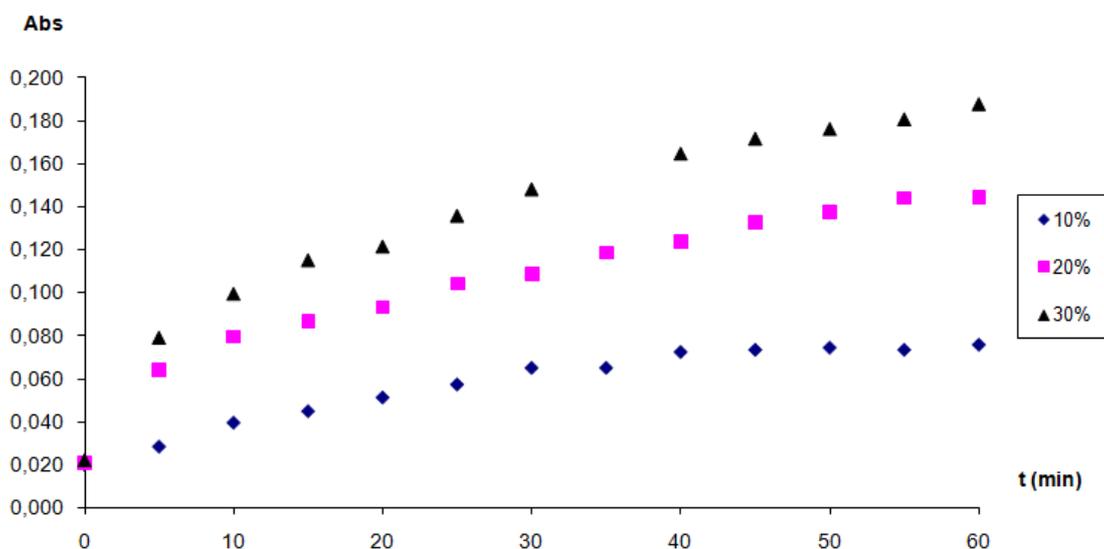
## **4.2 Extraction de $\beta$ -carotène par ultrasons**

Le  $\beta$ -carotène est une molécule liposoluble connue pour son activité antioxydante et son rôle de provitamine A. Grâce à ces propriétés elle est utilisée dans de nombreux compléments alimentaires et dans le domaine de la nutraceutique. Un des freins majeurs à son développement est la difficulté d'extraction de cette molécule. En effet, les entreprises travaillant avec le  $\beta$ -carotène ont souvent recours à l'utilisation de solvants nocifs pour permettre de bons rendements d'extraction. Cela pose ensuite de nombreux problèmes car d'un point de vue sanitaire, aucune trace de ces solvants ne peut être retrouvée dans le produit final, ce qui implique l'utilisation de techniques de purification souvent très coûteuses. Une difficulté supplémentaire à son développement est la très forte sensibilité de cette molécule, tant à la lumière qu'aux fortes températures.

### **4.2.1 Essais préliminaires**

Avant d'avoir recours à un plan d'expérience, des essais préliminaires doivent être menés afin de déterminer les bornes à appliquer à ce plan. Différents paramètres sont à prendre en compte dans notre analyse :

- La puissance ultrasonore : celle-ci peut être divisée en deux sous catégories, la première est la puissance délivrée par le générateur, la seconde la densité de puissance c'est-à-dire la puissance appliquée par gramme de matière. Cette dernière nous oblige à réaliser une étude de concentration optimale en carotte sèche dans l'huile d'olive
- La température : travaillant dans l'huile d'olive, la température ne peut pas être descendue au dessous de 10°C car sinon une partie de cette huile peut figer ce qui altérerait l'homogénéité de notre mélange. Le  $\beta$ -carotène étant une molécule sensible à la température et étant connue pour commencer à se dégrader avant 40°C, nous avons décidé de nous arrêter à 34°C afin d'éviter cette dégradation et donc de ne pas influencer le résultat du plan
- Le temps d'extraction : ce paramètre doit être également testé lors des études préliminaires afin de déterminer les bornes temporelles d'extraction



**Figure 48** : Cinétiques d'extraction du  $\beta$ -carotène dans l'huile d'olive en fonction du ratio carotte-huile à 20°C

Dans un premier temps nous avons donc testé différentes concentrations de carottes sèches dans l'huile et suivi la cinétique d'extraction du  $\beta$ -carotène. Ces résultats sont présentés dans la figure 48. Cette figure nous apporte plusieurs informations : tout d'abord, la plus importante est que nous pouvons extraire du  $\beta$ -carotène dans l'huile d'olive puisque

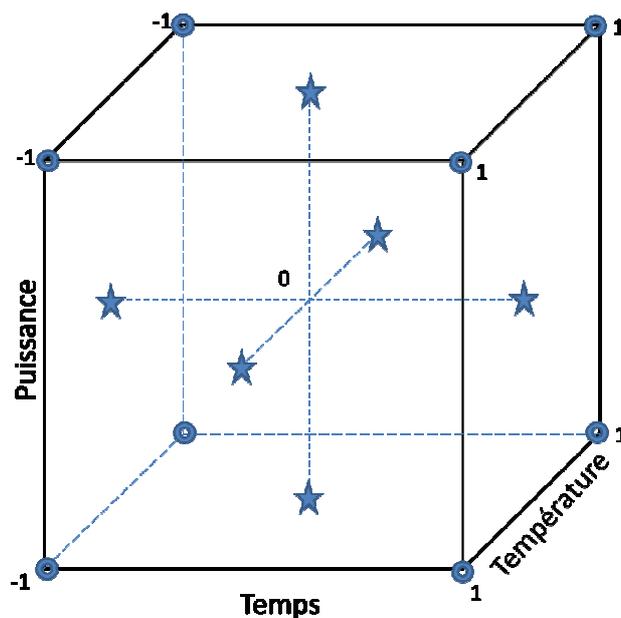
l'absorbance de la solution augmente. Des essais menés en parallèles comparant l'extraction assistée par ultrasons et une simple macération montre que très peu de  $\beta$ -carotène peut être extrait par macération passive dans l'huile d'olive (absorbance finale d'environ 0.025). La seconde information est que le ratio carotte-huile a son importance. En effet lorsque la proportion de carotte passe de 10 à 20 % (m/v) la concentration de la solution en  $\beta$ -carotène est doublée. Cette augmentation n'est cependant pas linéaire puisque l'absorbance augmente de façon plus limitée lorsque le ratio passe de 20 à 30 %. 20 % a donc été choisi comme ratio de référence pour les expériences suivantes, soit 200 g de carotte sèche par litre d'huile d'olive. Nous pouvons également remarquer sur la figure que la concentration en  $\beta$ -carotène continue d'augmenter après une heure d'extraction, mais que 80 % de l'extraction a été réalisée après 30 minutes d'extraction. Nous avons donc choisi de placer cette durée dans le plan d'expérience et de la plafonner à 35 minutes d'extraction. La durée minimale d'extraction a quant à elle été placée à 5 minutes.

Le générateur d'ultrasons possède un régulateur permettant de délivrer différentes puissances au mélange d'extraction. Des essais ont été menés afin de calculer non pas la puissance délivrée par le générateur mais la puissance réelle absorbée par la solution. Ces résultats montrent qu'un litre d'huile d'olive absorbe des puissances allant de 10 à 60 W par notre générateur. Pour des raisons pratiques, les bornes du plan d'expérience ont été placées à 20 et 60 W afin de tester une large gamme de puissances ultrasonores.

#### 4.2.2 Présentation du plan d'expérience

Le logiciel Statgraphics nous a permis de développer un plan d'expérience de type composite centré. Dans ce type de plan trois paramètres peuvent être testés et sont schématiquement représentés sur un graphique en trois dimensions (Figure 49). Chaque paramètre étant borné, l'ensemble du domaine d'analyse peut être représenté dans un cube virtuel, les angles de ce cube correspondant aux bornes des paramètres. Dans ce type de plan, 20 manipulations doivent être menées afin de tester les trois paramètres ainsi que la fiabilité du système :

- 6 au centre du cube
- 8 aux extrémités du cube
- 6 au centre des faces du cube



**Figure 49** : Représentation du plan d'expérience sous forme d'un cube virtuel

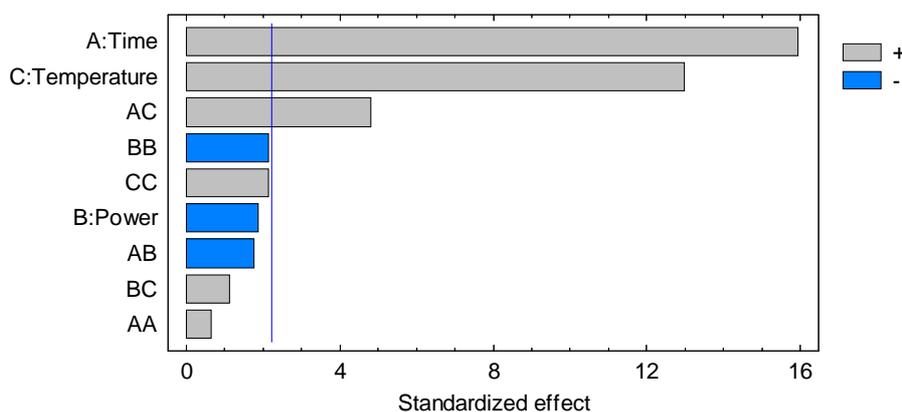
**Tableau 29** : Tableau récapitulatif des expériences et résultats du plan d'expérience

	Temps (min)	Puissance (W)	Temperature (°C)	Absorbance	<b>C carotène (mg/L d'huile)</b>
<b>1</b>	20	60	22	0,077	<b>160</b>
<b>2</b>	5	20	10	0,048	<b>100</b>
<b>3</b>	5	20	34	0,068	<b>141</b>
<b>4</b>	5	40	34	0,066	<b>137</b>
<b>5</b>	5	40	22	0,055	<b>114</b>
<b>6</b>	20	40	22	0,079	<b>164</b>
<b>7</b>	20	40	34	0,109	<b>226</b>
<b>8</b>	20	40	22	0,079	<b>164</b>
<b>9</b>	35	60	10	0,088	<b>183</b>
<b>10</b>	20	40	22	0,081	<b>168</b>
<b>11</b>	20	40	22	0,084	<b>174</b>
<b>12</b>	35	20	34	0,131	<b>272</b>
<b>13</b>	20	40	10	0,057	<b>118</b>
<b>14</b>	20	20	22	0,064	<b>133</b>
<b>15</b>	5	60	10	0,046	<b>95</b>
<b>16</b>	35	60	34	0,133	<b>276</b>
<b>17</b>	35	40	22	0,102	<b>212</b>
<b>18</b>	20	40	22	0,080	<b>166</b>
<b>19</b>	35	20	10	0,071	<b>147</b>
<b>20</b>	20	40	22	0,081	<b>168</b>

L'ordre de ces manipulations est attribué de façon aléatoire par le logiciel Statgraphics. La variable analysée dans notre cas est la concentration finale en  $\beta$ -carotène dans l'huile d'olive. Nous avons donc mesuré chaque absorbance en fin d'extraction, puis calculé la concentration correspondante en  $\beta$ -carotène (grâce à l'aide d'une courbe d'étalonnage) et reporté ces valeurs dans le tableau de résultats (Tableau 29).

### 4.2.3 Traitement des données par Statgraphics

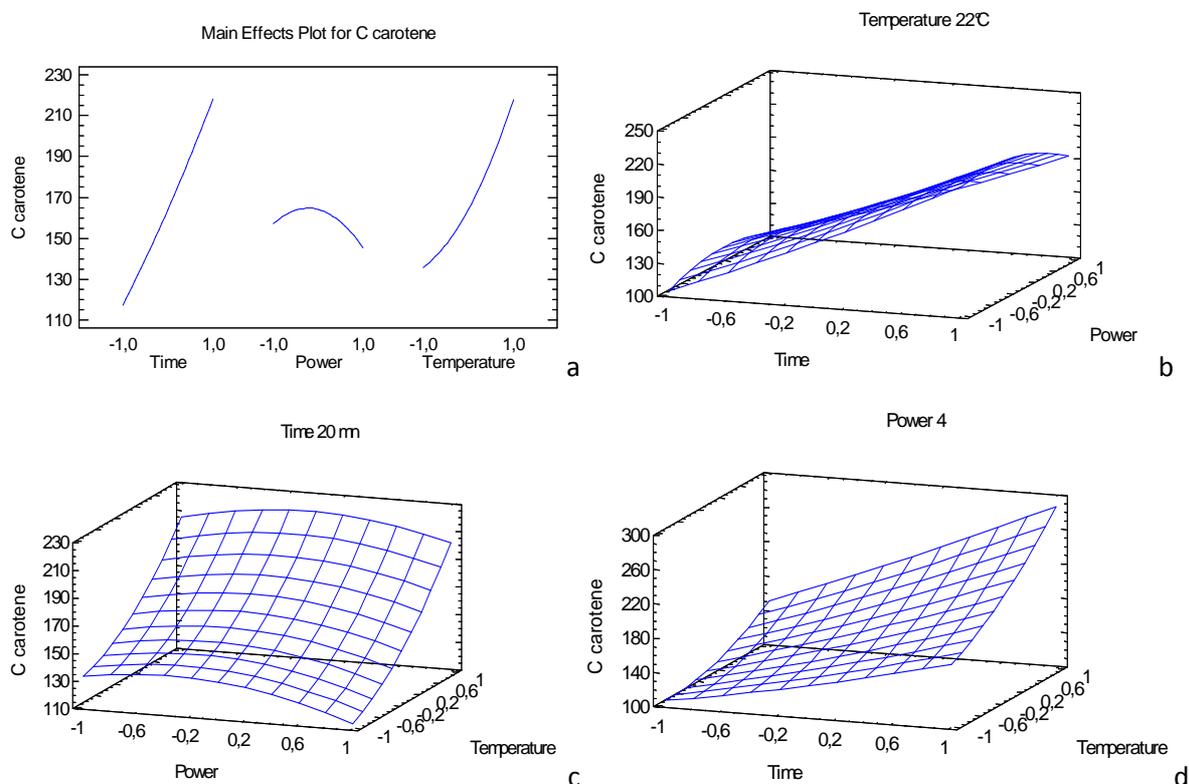
Une fois calculées, les concentrations en  $\beta$ -carotène sont intégrées par Statgraphics qui va estimer l'importance de chacun des paramètres de l'étude. Le premier résultat est le diagramme de Pareto qui permet de déterminer quels sont les paramètres influençant de façon significative la concentration finale en  $\beta$ -carotène (Figure 50).



**Figure 50** : Diagramme de Pareto pour la concentration en  $\beta$ -carotène

Comme le montre la figure 50, le paramètre le plus influençant est le temps d'extraction devant la température. Ce qui nous a surpris ici est de voir que la puissance ultrasonore n'a pas d'influence significative sur l'extraction. Nous avons constaté lors des études préliminaires que l'application des ultrasons permettait de beaucoup mieux extraire le  $\beta$ -carotène qu'une simple macération, mais la puissance ultrasonore appliquée ne semble pas avoir de grande influence sur son extraction. Ces premiers résultats sont ensuite repris plus en détails (Figure 51). Nous pouvons remarquer que le temps et la température d'extraction influencent de façon quasi linéaire l'extraction du  $\beta$ -carotène alors que la puissance ultrasonore atteint un maximum dans la partie basse de la gamme de puissance testées (Figure 51a).

L'optimum de température et de temps d'extraction se situe au maximum de ces deux critères soit 34°C et 35 minutes. Pour ce qui est de la puissance ultrasonore, l'optimum se situe à 33,5 Watts.



**Figure 51 :** Interprétations graphique des résultats par Statgraphics : <sup>a</sup> effet général des variables, <sup>b</sup> influence du temps et de la puissance à 22°C, <sup>c</sup> influence de la température et de la puissance après 20 minutes, <sup>d</sup> influence du temps et de la température à 40 Watts

#### 4.3.4 Bilan du plan d'expérience

Lors des études préliminaires nous avons avant tout cherché à préserver le  $\beta$ -carotène de la dégradation, à la fois en n'utilisant pas de trop fortes températures ni des temps d'extraction trop longs. Ces conditions devaient permettre de ne pas avoir de biais dû à une dégradation qui pourrait faire penser que le  $\beta$ -carotène n'a tout simplement pas été extrait. Les résultats donnés par le plan montrent que non seulement nous n'avons pas utilisé de conditions trop drastiques pour le  $\beta$ -carotène, mais que nous aurions probablement pu utiliser des conditions de température et des durées supérieures à celles employées ici afin d'observer un infléchissement de la courbe de concentration en carotène.