



Université de Constantine 3
Faculté de Génie des Procédés
Département de Génie Chimique

ETUDE EXPÉRIMENTALE ET MODÉLISATION DE L'EXTRACTION DES LIPIDES DES MATRICES VEGETALES

THÈSE

Présentée pour l'Obtention du
Diplôme de Doctorat Troisième Cycle
en Génie des Procédés

Par

Abdelber BELBAKI

Année Universitaire
2020-2021



Université de Constantine 3
Faculté de Génie des Procédés
Département de Génie Chimique

N° de Série :
N° d'Ordre :

ETUDE EXPÉRIMENTALE ET MODÉLISATION DE L'EXTRACTION DES LIPIDES DES MATRICES VEGETALES

THÈSE

Présentée pour l'Obtention du
Diplôme de Doctorat Troisième Cycle
en Génie des Procédés

Par

Abdelber BELBAKI

Devant le Jury Composé de :

Abdeslam Hassen MENIAI	Président	Professeur	Université Constantine 3
Wahida LOUAER	Directeur	Professeure	Université Constantine 3
Ahmed ZERMANE	Examineur	Professeur	Université Oum Bouaghi
Ghania CHAIB	Examineur	MCA	Université Constantine 1
Reda KHAMA	Examineur	MCA	Université Batna 2
Raouf ZEHIOUA	Examineur	MCA	Université Constantine 3

Année Universitaire

2020-2021

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant de m'avoir permis de mener à terme ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes remerciements les plus sincères à ma Directrice de thèse Mme LOUAËR Wahida de m'avoir encadré et accompagné tout au long de ces années de recherche, par son écoute et son implication. Ce fût un véritable plaisir pour moi de travailler avec elle dans une ambiance chaleureuse. Je la remercie pour son ouverture d'esprit, ses conseils, son aide et ses remarques toujours pertinentes et son enthousiasme pour la recherche. Tout ceci m'a encouragé et permis de mener à bien ce travail. Je suis très reconnaissant et j'espère avoir été digne de la confiance qu'elle a placée en moi.

Mes remerciements les plus sincères vont à Mr MENIAI Abdeslam-Hassen Professeur et Doyen de la faculté du génie des procédés à l'Université Salah BOUBNIDER Constantine 3 qui a contribué à la réalisation thèse avec beaucoup de sagesse et générosité. Je le remercie sincèrement pour ces conseils, sa patience, ses connaissances et son implication ont contribué pour une grande part à la réussite de ce travail. Je lui témoigne toute ma gratitude

Mes remerciements vont aussi aux membres examinateurs du Jury ; Mme Chaïb Ghania., Mr Khama Reda. Mes remerciements les plus sincères vont aussi à Mr ZERMAN Ahmed pour m'avoir initiée à la machine d'extraction à fluide supercritique et d'avoir été patient jusqu'à ce que je devins autonome. Qu'il trouve l'expression de toute ma gratitude. Mes vifs remerciements s'adressent, tout particulièrement à Madame OUTILI Nawel, Professeur au sein de notre faculté de l'université Constantine 3, pour ces conseils. Enfin je remercie toutes les personnes qui m'ont soutenu et encouragé pour la concrétisation de ce travail ; ainsi que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

Dédicaces

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chères frères et sœurs, pour leurs encouragements permanents, leur appui et leur soutien moral,

A toute ma famille grande et petite pour leur soutien tout au long de mon parcours,

Je ne peux pas terminer sans citer des personnes que j'ai beaucoup d'estime pour eux, mes chers amis, mes collègues, mes connaissances durant ce travail,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Table des matières

LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES TABLEAUX	ix
LISTE DES ABREVIATIONS	x
Résumé.....	xi
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I : SYTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
1.1. Introduction.....	4
1.2. Lipides (Corps Gras)	4
1.3. Classes de lipides.....	5
1.3.1. Acides gras.....	5
1.3.2. Glycéro-lipides	7
1.3.3. Stérides	8
1.4. Extraction des lipides	8
1.4.1. Méthodes classiques	9
1.4.2. Méthodes Alternatives.....	10
1.5. Caractérisation des lipides.....	13
1.6. Application du CO ₂ supercritique dans différentes industries.....	14
1.7. Extraction des lipides par CO ₂ supercritique.....	16
1.8. Conclusion.....	22
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	
2.1. Introduction.....	23
PARTIE 1 : MATERIELS	
2.2. Sérum humain.....	23
2.2.1. Sang.....	23
2.2.2. Lipides sanguin.....	25
2.2.3. Risques lipidiques sur la santé.....	26
2.3. Fruits d’Olives.....	26
2.3.1. Historique.....	26

2.3.2. Variétés d'olivier.....	27
2.3.3. Fruits d'olives.....	27
2.3.4. Huile d'olive.....	28
2.3.5. Composition de l'huile d'olive.....	29
2.3.6. Bienfaits de l'huile d'olive.....	29
2.3.7. Matière première utilisée.....	30

PARTIE 2 : METHODES

2.4. Extraction des lipides totaux, cholestérol et triglycérides.....	31
2.4.1. Protocole d'extraction.....	31
2.4.2. Analyse du taux de lipides sériques.....	32
2.5. Extraction de l'huile d'olive.....	33
2.5.1. Séchage et broyage.....	34
2.5.2. Principe d'extraction.....	34
2.5.3. Choix des conditions opératoires.....	35
2.5.4. Extraction de l'huile d'olive par CO ₂ supercritique.....	35
2.5.5. Etude expérimentale par Plans d'expériences.....	37
2.5.6. Analyse des extraits par CPG.....	40
2.5.7. Analyse morphologique par MEB.....	41
2.6. Conclusion.....	41

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Introduction.....	42
3.2. Extraction des lipides totaux dans le sérum humain.....	42
3.3. Extraction de la matière grasse contenue dans les fruits d'olive par CO ₂ -SC.....	44
3.3.1. Essais préliminaires.....	44
3.3.2. Résultats de l'extraction à partir des olives broyées.....	45
3.3.3. Analyse statistique du modèle.....	54
3.3.4. Effets des paramètres.....	60
3.3.5. Analyses qualitatives et quantitatives de l'extrait lipidique par CPG.....	67
3.3.6. Effet des paramètres opératoires sur la composition de l'huile d'olive extraite par CO ₂ -SC.....	72
3.3.7. Analyse de la structure par MEB.....	75
3.3.8. Valorisation des sous-produits.....	78
3.4. Conclusion.....	84

CHAPITRE IV : MODELISATION

4.1. Introduction.....	85
4.2. Différents modèles décrivant l'extraction par fluides supercritiques.....	85

4.2.1. Modèle BIC (Broken and Intact Cells).....	86
4.2.2. Modèle HBD (Hot Ball Diffusion).....	87
4.2.3. Modèle DLT (Diffusion Layer Theory).....	88
4.2.4. Modèle DM (Desorption Model).....	89
4.2.5. Modèle PCM (Partitioning Coefficient Model).....	90
4.2.6. Modèle SC (Shrinking Core).....	90
4.3. Modélisation de l'extraction de l'huile d'olive par CO ₂ par le modèle de Shrinking Core.....	91
4.3.1. Equations des bilans de matière.....	92
4.3.2. Résolution numérique.....	97
4.3.3. Estimation des propriétés physico-chimiques du CO ₂ -SC et des paramètres de transfert de matière.....	101
4.3.4. Organigramme.....	105
4.3.5. Résultats et discussions.....	106
4.4. Conclusion.....	114
CONCLUSION GENERALE.....	115
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	117
ANNEXES	
Annexe A. Equipement d'extraction.....	133
Annexe B. Morphologie par MEB avant et après extraction.....	138
Annexe C.	143
Annexe D Production Scientifique	145

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
1.1	Structure générale des triglycérides.	8
1.2	Extraction par Soxhlet.	9
1.3	Diagramme de phase (P, T) d'un corps pur.	11
1.4	Technologie des fluides supercritiques appliquée à la nourriture quotidienne.	16
1.5	Unité industrielle d'extraction par CO ₂ supercritique des huiles alimentaires (Natex, Allemagne).	17
1.6	Unité industrielle de désacidification des huiles par CO ₂ supercritique (Espagne).	17
2.1	Préparation du a) Plasma, b) Sérum issu du sang frais.	25
2.2	Structure schématique d'une drupe, l'olive.	28
2.3	Variété d'olive Chemlal.	31
2.4	Analyseur d'humidité.	34
2.5	Pilote d'extraction par fluides supercritiques au niveau du LIPE.	34
2.6	Schéma du procédé d'extraction par FSC.	36
2.7	Domaine d'étude (espace expérimentale).	37
2.8	Plan Box-Behnken pour trois facteurs.	38
3.1	Différentes phases après extraction.	44
3.2	Morphologie des fruits après extraction A) fruits Jordaniens, B) fruits Algériens.	45
3.3	Cinétique d'extraction de l'huile d'olive par CO ₂ -SC à différents conditions de pression, de température et de temps de contact.	47
3.4	Masse d'huile cumulée en fonction de la masse de CO ₂ utilisée à différents pression et température durant trois heures.	52
3.5	Comparaison entre le rendement d'extraction mesuré expérimentalement et prédit par le modèle.	58
3.6	Présentation de Paréto.	60
3.7	Effet de la pression.	61
3.8	Effet du temps d'extraction.	62
3.9	Effet de la température.	63
3.10	Surface de réponse et Contour du rendement en fonction de température-pression durant 105 min.	64
3.11	Surface de réponse et Contour du rendement en fonction du temps d'extraction-pression à 50 °C.	65
3.12	Surface de réponse et Contour du rendement en fonction du temps d'extraction-température à 250 bar.	66
3.13	Exemple de chromatogramme du profil d'acides gras méthyl esters (FAME).	68
3.14	Exemple de Chromatogramme du profil acides gras libres et glycérides.	71
3.15	Figures 3.15 : MEB Monographies de l'échantillon d'olive avant et après extraction a) à l'échelle de 200 µm, b) à l'échelle de 100 µm.	76
3.16	Cire présente dans une huile extraite : a) par CO ₂ -SC, b) par Pressage à froid.	79

3.17	Activité antibactérienne de la cire brute testée sur <i>Staphylococcus aureus</i> .	80
3.18	Activité antifongique de la cire brute testée sur <i>Candida albicans</i> .	80
3.19	Sorption du Bleu de Méthylène sur différents supports bruts aux conditions : $Q=10$ g/l, $v=400$ tr/min, $T=20^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=6$. Effet du temps de contact sur la rétention du paracétamol par le grignon d'olive et la bentonite brute, $Q=50\text{mg/l}$, $\text{ph}=6.12$, $T=$ 20°C .	82
3.20	Rendement de l'élimination du paracétamol par les deux adsorbants.	83
3.21		84
4.1	Principe du modèle de Shrinking Core.	95
4.2	Schéma du transfert de matière à travers un élément de volume.	96
4.3	Elément différentiel de la particule sphérique.	99
4.4	Organigramme du programme de calcul.	108
4.5	Comparaison entre les résultats obtenus expérimentalement et numériquement.	111
4.6	Comparaison entre les rendements prédits et expérimentaux en fonction du temps à différentes conditions opératoires.	116

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	Page
1.1	Composition en acides gras de quelques substances (valeur moyenne en %).	6
1.2	Comparaison des propriétés physiques d'un fluide dans ses trois états liquide, gaz et supercritique.	12
1.3	Températures et pressions critiques de quelques solvants utilisés en extraction supercritique des substances naturelles.	13
1.4	SFE des corps gras à partir de sources animales et végétales.	18
2.1	Composition du fruit d'olives.	28
2.2	Matrice du plan Box-Behnken élaborée pour notre cas d'étude.	39
3.1	Quantité moyenne des lipides avant et après extraction.	42
3.2	Niveaux des paramètres opératoires appliqués.	46
3.3	Rendement de l'extraction par CO ₂ -SC de l'huile d'olive en fonction des conditions opératoires.	46
3.4	Solubilité de l'huile d'olive dans le CO ₂ supercritique.	54
3.5	Résultats de la régression des données expérimentales du modèle Box-Behnken.	55
3.6	Matrice de conception Box-Behnken en unités codées couplée à la réponse (expérimentale et calculée).	57
3.7	Analyse de Variance (ANOVA).	59
3.8	Résultats d'analyse par CPG des acides gras estérifiés par méthylation FAME.	68
3.9	Comparaison des compositions en acides gras de l'huile d'olive extraite par CO ₂ supercritique et par pressage.	70
3.10	Résultats d'analyse par CPG des acides gras libres et des glycérides.	71
3.11	Conditions opératoires des échantillons.	73
3.12	Effet des paramètres opératoires sur la composition en acides gras.	73
3.13	Effet des paramètres opératoires sur la composition en glycérides. (Résultats exprimés en % massique).	
4.1	Propriétés et paramètres estimées en fonction des conditions expérimentales.	109
4.2	Résultats de la modélisation.	110
4.3	Rendements de l'extraction de l'huile d'olives par CO ₂ -SC.	110

LISTE DES ABREVIATIONS

Symbole	Désignation	Unité
A :	Surface de l'extracteur	[m ²]
a _p :	Aire spécifique par particule	[m ⁻¹]
C :	Concentration au sein du fluide	[kmol/m ³]
C _i (R) :	Concentration de l'huile à la couche limite	[kmol/m ³]
D _e :	Coefficient de diffusion effectif	[m ² /s]
D _L :	Coefficient de diffusion	[m ² /s]
d _p :	Diamètre des particules	[m]
k _f :	Coefficient de transfert de matière externe	[m/s]
P :	Pression	[bar]
P _c :	Pression critique	[bar]
Q :	Débit du CO ₂ supercritique	[g/min]
q ₀ :	Concentration initiale de l'huile dans le solide	[kmol/m ³]
Y :	Rendement	
r :	Rayon de la particule solide	[m]
r _c :	Rayon critique de la particule solide	[m]
T :	Température	[°C]
T _c :	Température critique	[°C]
T :	Temps d'extraction	[min]
U :	Vitesse superficielle	[m/s]
S :	Solubilité	
z :	Direction de l'écoulement	[m]
v :	Vitesse interstitielle du fluide	[m/s]
ε :	Fraction de vide	
CO ₂ -SC :	CO ₂ supercritique	

Résumé

Le recours à des extraits bios et libres de traces de solvants est largement connu au cours de ces dernières années. Dans ce contexte, le marché mondial à travers les industries agro-alimentaire et pharmaceutiques fait appel à des méthodes alternatives afin d'extraire des principes actifs et des substances d'intérêts. Ces dernières remplacent les procédés d'extractions par solvants toxiques qui peuvent présenter un danger sur la santé humaine ou animale. Généralement, l'industrie n'est pas intéressée par des solvants complexes mais plutôt par des solvants simples et moins toxiques tels que le dioxyde de carbone ou les hydrocarbures légers.

Ce travail de thèse a trait à l'extraction des lipides d'origine végétale à partir des fruits d'olives algériens par une technologie verte utilisant le CO₂ à son état supercritiques en adoptant la méthodologie des plans d'expériences. Différents paramètres tels que la pression, la température et le temps d'extraction sur le rendement sont examinés et optimisés.

Le rendement maximal en huile obtenu est de 29.01% dans les conditions de 250 bars, 40 °C et 180 min. Des effets significatifs du temps d'extraction et de la pression sont montrés sur le taux de matière grasse extraite, contrairement à la température. L'optimisation du processus par plan Box-Behnken a permis d'identifier le point optimal aux conditions 300 bars, 60 °C et 180 min où le rendement maximal atteint est de 33.35%.

La composition des extraits en acides gras et de glycérides par CPG s'est avérée similaire à celle de l'huile d'olive obtenue par les méthodes classiques. La morphologie visualisée par MEB justifie l'utilisation de la technique des fluides supercritique.

Une valorisation des sous-produits est tentée en testant les effets de l'activité antibactérienne et antimicrobienne de la cire, ainsi que le pouvoir adsorbant du résidu de l'extraction des fruits d'olives de deux polluants à savoir le bleu de méthylène et la paracétamol. Les résultats des tests biologiques sont très prometteurs. Pour la capacité d'adsorption, le résidu a montré un pouvoir adsorbant très important comparativement au charbon actif, au mac du café et à la bentonite.

Les résultats de la modélisation par le modèle de Shrinking Core modifié par rapport à l'ajustement du diamètre des particules d_p en plus du coefficient de diffusion effectif D_e , sont en bon accord avec ceux obtenus expérimentalement.

A travers cette étude, nous confirmons que l'extraction par fluides supercritiques spécifiquement le CO₂ est un procédé vert vis-à-vis les différents avantages qu'il présente.

Mots-clés : Lipides ; CO₂ Supercritique ; Huile d'olive ; acides gras ; Rendement d'extraction ; modèle de 'Shrinking Core'.

Abstract

The recourse for extracts bio and free from any traces of toxic solvents is widely known in recent years. In this context, the global market through the agro-food and pharmaceutical industries calls for alternative methods in order to extract active ingredients and substances of interest. These replace the extraction processes using toxic solvents, which can present a danger to human or animal health. Usually, the industry is not interested in complex solvents but rather in simple and less toxic solvents such as carbon dioxide or light hydrocarbons.

This thesis concerns the extraction of lipids from plant origin from Algerian olive fruits by a green technology using CO₂ in its supercritical state by adopting the methodology of experimental design. Various parameters such as pressure, temperature and extraction time are examined and optimized.

The maximum oil yield obtained is 29.01% under the conditions of 250 bars, 40 ° C and 180 min. Significant effects of extraction time and pressure are shown on the rate of fat extracted, unlike temperature. The optimization of the process by Box-Behnken plan made it possible to identify the optimum point under conditions of 300 bars, 60 ° C and 180 min where the maximum yield achieved is 33.35%.

The composition of the extracts in fatty acids and triglycerides given by CPG was found to be similar to that of olive oil obtained by conventional methods. The morphology visualized by SEM justifies the use of the supercritical fluid technique.

A valuation of the by-products is attempted by testing the effects of the antibacterial and antimicrobial activity of the wax, as well as the adsorbing power of the residue from the extraction of olive fruit of two pollutants, namely methylene blue and paracetamol. The results of biological tests are very promising. For the adsorption capacity, the residue showed a very high adsorbing power compared to activated carbon, coffee mac and bentonite.

The results of the modelling by the modified Shrinking Core model in terms of the adjustment of the particle diameter d_p in addition to the effective diffusion coefficient D_e , are in good agreement with those obtained experimentally.

Through this study, we confirm that the extraction by supercritical fluids specifically CO₂ is a green process face to the various advantages witch presents.

Keywords: Lipids; Supercritical CO₂; Olive oil ; Fatty acids; Extraction yield; 'Shrinking Core' model.

ملخص

أصبح استخدام المستخلصات العضوية الخالية من آثار المذيبات معروفاً على نطاق واسع في السنوات الأخيرة. في هذا السياق، يدعو السوق العالمي من خلال الصناعات الغذائية والصيدلانية إلى طرق بديلة لاستخراج المكونات الفعالة والمواد ذات الأهمية. هذه تحل محل عمليات الاستخراج باستخدام مذيبات سامة يمكن أن تشكل خطراً على صحة الإنسان أو الحيوان. عادة، لا تهتم الصناعة بالمذيبات المعقدة بل بالمذيبات البسيطة والأقل سمية مثل ثاني أكسيد الكربون أو الهيدروكربونات الخفيفة.

تتعلق هذه الدراسة باستخراج الدهون من أصل نباتي من ثمار الزيتون الجزائرية بتقنية خضراء باستخدام ثاني أكسيد الكربون في حالته فوق الحرجة من خلال اعتماد طريقة التصميم التجريبي. بعض العوامل المختلفة كالضغط ودرجة الحرارة ووقت الاستخراج قد تمت دراسة تأثيرها على الزيت المستخلص.

يبلغ الحد الأقصى لإنتاج زيت الزيتون 29.01% في ظل ظروف 250 بار و 40 درجة مئوية و 180 دقيقة. تظهر تأثيرات كبيرة لوقت الاستخراج والضغط على معدل الدهون المستخرجة، على عكس درجة الحرارة. جعل تحسين العملية من خلال خطة Box-Behnken من الممكن تحديد النقطة المثلى في ظل ظروف 300 بار و 60 درجة مئوية و 180 دقيقة حيث تبلغ أقصى مردود تم تحقيقه هو 33.35%.

تركيبية المستخلصات من الأحماض الدهنية والجليسيريد التي تم معرفتها بواسطة CPG وجد أنها مماثلة لتركيبية زيت الزيتون الذي تم الحصول عليه بالطرق التقليدية. يبرر التشكل الذي تصوره SEM استخدام تقنية السائل فوق الحرج.

تم تمييز المنتجات الثانوية من خلال اختبار تأثيرات النشاط المضاد للبكتيريا والميكروبات للشمع، بالإضافة إلى قوة الامتصاص من البقايا الناتجة عن استخراج ثمار الزيتون لموثين، وهما الميثيلين الأزرق والباراسيتامول. نتائج الاختبارات البيولوجية واعدة للغاية. بالنسبة لقدرة الامتصاص، أظهرت البقايا قوة امتصاص عالية جداً مقارنة بالكربون المنشط، وثقل القهوة والبننونيبت.

نتائج النمذجة بواسطة نموذج انكماش النواة المحور بتعديل قطر الجسيم dp بالإضافة إلى معامل الانتشار الفعال De ، وجد أنها تتفق جيداً مع تلك التي تم الحصول عليها تجريبياً.

من خلال هذه الدراسة، نؤكد أن الاستخلاص بواسطة السوائل فوق الحرجة على وجه التحديد ثاني أكسيد الكربون هو عملية خضراء مقابل المزايا المختلفة التي يقدمها.

كلمات البحث: الدهون، ثاني أكسيد الكربون فوق الحرج، زيت الزيتون؛ الأحماض الدهنية، نموذج "انكماش النواة".

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GENERALE

Les applications des procédés extractifs dans l'industrie de transformation physico-chimique de la matière, spécialement l'industrie agro-alimentaires et pharmaceutiques sont limitées par le choix des solvants. Certains peuvent présenter un danger sur la santé humaine ou animale. Généralement, l'industrie n'est pas intéressée par des solvants complexes mais plutôt par des solvants simples et moins toxiques tels que le dioxyde de carbone ou les hydrocarbures légers[1], [2].

Les corps gras sont présents non seulement dans le secteur agro-alimentaire où ils jouent un rôle fondamental dans la texture, le goût et la conservation des aliments, mais aussi dans les industries cosmétiques et pharmaceutiques (produits solaires, crèmes de soin et divers produits de maquillage...etc.). Toutefois, chaque secteur utilise des corps gras différents, a des contraintes différentes [1], [3], [4].

Ces composés sont principalement des esters de glycérol et des acides gras. Dans cette catégorie, les triglycérides constitués de trois acides gras attachés à une molécule de glycérol représentent les composants majoritaires des graisses animales et des huiles végétales. Le rôle de cette fraction lipidique s'avère incontournable dans la prévention de la santé chez l'être humain. Elle assure principalement le bon fonctionnement de l'ensemble de l'organisme en tant que molécules de structures en préservant la fonction cardio-vasculaire. C'est aussi une source d'énergie, un moyen de transport des vitamines et d'autres composés nécessaires au développement du système cérébral [5], [6].

De ce fait, l'extraction de ces composés a connu plusieurs stades de développement, initialement par l'utilisation de solvants généralement toxiques et néfastes pour la santé et l'environnement. Par la suite, le choix s'est orienté vers les solvants moins nocifs tels que l'hexane ou le mélange chloroforme/méthanol. Les principaux inconvénients de ces procédés sont liés à la consommation de grandes quantités de solvants, une longue durée d'extraction et la qualité des extraits résultants. Tous ces facteurs ont incité la recherche vers d'autres alternatives innovantes à savoir l'utilisation de l'extraction par fluides supercritiques comme le CO₂, l'eau,...etc. [7], [8].

La technique à base de CO₂-SC a connu une propagation importante ces dernières années par rapport à ses différents avantages, notamment la pureté des extraits, les propriétés critiques du CO₂ (P_c et T_c) facilement accessibles, sa disponibilité à faible coût, en plus du temps d'extraction modéré comparativement aux méthodes classiques [9], [10].

L'extraction par CO₂-SC de produits naturels a trouvé des applications dans différents secteurs à l'échelle mondiale [11], [12], nous citons :

- L'industrie alimentaire pour produire des huiles, de la caféine,...etc.
- L'industrie pharmaceutique pour la séparation des principes actifs contenus dans différentes matrices végétales ou animales.
- L'industrie cosmétique pour l'extraction des huiles essentielles de diverses espèces.

La présente étude cible l'extraction des lipides de différentes sources animale et végétale en utilisant des techniques appropriées pour chaque système. Pour cela, nous avons subdivisé ce travail en quatre chapitres.

Le premier chapitre a fait l'objet d'une synthèse bibliographique sur les différentes méthodes adoptées pour extraire les lipides, qu'ils soient de nature animale ou végétale. Certaines méthodes sont basées sur l'utilisation d'un solvant ou d'un mélange de solvants organiques à des conditions opératoires bien définies comme présentés par Folch et al [13]. L'autre méthode envisagée est basée sur des solvants à leur état supercritique spécifiquement le dioxyde de carbone. Le CO₂-SC très répandu dans l'atmosphère trouve un vaste champ d'application dans l'industrie vue les caractéristiques spécifiques qu'il présente (non-inflammable, non-toxique, disponible à faible coût...etc).

Le deuxième chapitre décrit les deux systèmes ciblés lors de cette étude et les méthodes appliquées sur chaque matrice afin d'extraire la matière grasse. Le sérum est pris comme source de lipides animale. Cette fraction est obtenue par centrifugation du sang humain composé d'eau, d'électrolytes, de protéines, de lipides et de vitamines,...etc. Du fait que les lipides sont insolubles dans l'eau, l'hexane seul ou mélangé au propanol ou le mélange chloroforme-méthanol, sont généralement utilisés comme solvants d'extraction. Notant que le chloroforme extrait principalement les

lipides neutres tels que les triglycérides, alors que le méthanol extrait surtout les phospholipides, les glycoprotéines et le cholestérol.

L'autre source lipidique étudiée est de nature végétale. Il s'agit des fruits d'olives cultivés en Algérie précisément dans la région de Constantine. Cette espèce représente une source importante de la matière grasse, non seulement dans notre pays mais pour les pays du bassin méditerranéen depuis des millions d'années. L'huile déduite de cette matrice est extraite par CO₂ supercritique en suivant la méthodologie des plans d'expériences minimisant le nombre d'essais.

Le troisième chapitre est consacré aux principaux résultats obtenus dans la partie expérimentale à savoir le rendement en matière grasse, la composition des extraits et la morphologie du solide avant et après extraction.

Le quatrième chapitre décrit la modélisation du procédé d'extraction des lipides à haute pression. Une bibliographie sur les modèles appliqués à l'extraction par CO₂ supercritique est rapportée en détaillant le modèle Shrinking Core très répandu et en l'adaptant à notre cas.

Enfin, une conclusion générale récapitule les principaux résultats obtenus ainsi que des recommandations futures.

CHAPITRE I :

CHAPITRE I :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Introduction

Toute étude ou traitement d'une problématique nécessite une méthodologie qui considère l'état de l'art comme étape initiale primordiale de sorte qu'elle cible le problème démarrant des résultats des recherches antérieures.

Cette description fait l'objet de ce chapitre. Dans une première section, nous présentons les propriétés des lipides contenus dans différents systèmes à savoir la nature, les classes et les caractéristiques physico-chimiques. Suivie des procédés appliqués pour leurs extraction en précisant les plus recommandés et les plus respectueux de l'environnement et de la santé en utilisant des solvants de faible toxicité ou la technologie des fluides supercritiques.

1.2. Lipides

Les lipides appelés aussi corps gras ou matières grasses sont des produits naturels largement répandus dans le règne animal et végétal. Le terme « lipides » est employé pour désigner les corps gras liquides ou solides [14]. Ils constituent une famille hétérogène de molécules organiques du point de vue structure ou groupements fonctionnels, mais possèdent des propriétés communes concernant leurs densité (inférieure à celle de l'eau) et leurs solubilité ; insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques apolaires tels que le chloroforme, l'hexane, l'éther, etc. Ces molécules ont longtemps été considérées n'avoir qu'un rôle dans le stockage de l'énergie. Cependant, l'intérêt pour ces molécules est accentué depuis ces dernières années de par les découvertes de leur implication dans de nombreuses pathologies au sein de l'organisme ; réserves énergétiques stockées sous forme de triglycérides, transporteurs de molécules liposolubles telles que les vitamines et les colorants, molécules de structures (couches cellulaires), régulateurs métaboliques (hormones stéroïdes), émulsifiants et texture [15], [16].

Les corps gras alimentaires recouvrent les huiles et les graisses d'origine végétale ou animale. Ils peuvent être subdivisés en :

- huiles végétales fluides : huiles d'arachides, de colza, de germe de maïs, de tournesol, de soja, d'olive, de noix, de pépins de raisin ;
- huiles végétales concrètes (ou graisses) : coprah (provenant de la noix de coco), huiles de palme et de palmiste ;
- huiles et graisses d'origine animale terrestre : suif (graisse de bœuf et de mouton), huile de cheval, graisse d'oie ;
- huiles et graisses marines : baleine, cachalot, poissons (sardine, hareng, morue...);
- corps gras élaborés : beurres, margarines.

Les huiles sont différenciées des graisses par leur point de fusion. Les huiles sont des corps gras liquides à la température de 15°C, tandis que les graisses sont plus ou moins solides ou concrètes à cette température.

1.3. Classes de lipides

En général, les lipides se trouvent sous formes simples (alcool associé à un acide gras) et sont constitués d'atomes de carbone, hydrogène et d'oxygène. Cette catégorie recouvre les acides gras, les glycérides, les stérides et les cérides [17]. L'autre classe se trouve sous forme de lipides complexes ; alcool associé avec un acide gras et d'autres atomes tels que le phosphore, l'azote ou le soufre (glycérophospholipides et sphingolipides) [18]. Dans ce travail on s'intéresse aux lipides type acides gras, glycérides et stérides.

1.3.1. Acides gras

Les acides gras sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique hydrophobe. Ils sont considérés comme acides organiques faibles qui contiennent une seule fonction acide (-COOH) par molécule dont la longueur de la chaîne carbonique varie entre 4 et 30 [19]. Ces acides représentent 90 à 96% de la masse molaire des triacylglycérols (triglycérides). Ils se trouvent rarement à l'état libre dans la cellule, mais le plus souvent liés à un alcool pour former un lipide [20]. On distingue dans cette catégorie:

- Les acides gras volatils avec une chaîne courte (entre 4 et 10 carbones) ce qui facilite leurs transition à l'état gazeux.

- Les acides gras saturés ayant des atomes de carbone totalement saturés en hydrogène (pas de doubles liaisons). La longueur des chaînes est comprise entre 12 à 24 carbones dont les plus fréquents sont l'acide Laurique (C12:0), l'acide Myristique (C14:0), l'acide Palmitique (C16:0), l'acide Stéarique (C18:0), l'acide Arachidique (C20:0), etc.

Les acides gras insaturés dits ainsi lorsque ceux-ci comportent une ou plusieurs doubles liaisons C=C. Si l'acide présente une seule double liaison, on parle donc d'un acide gras mono-insaturé (AGMI) sinon il est polyinsaturé (AGPI).

Les acides gras disponibles dans certaines matrices animales et végétales sont regroupés dans le tableau 1.1.

Tableau 1.1 : Composition en acides gras de quelques substances (valeur moyenne en %)[19].

Acides gras	Corps gras d'origine végétale									Corps gras d'origine animale				
	Huiles						Graisses			Beurre de vache	Graisse corporelle		Huiles marines	
	Olive	Arachide	Soya	Colza classique	Colza nouveau (canola)	Luzerne	Palmiste	Coprah (noix de coco)	Cacao		Bœuf	Homme	Huile de baleine	Huile de poisson gras
1) Acides gras saturés														
C4 à C10	-	-	-	-	-	-	8	15	-	9	-	-	-	-
C12 Laurique	-	-	-	-	-	-	50	46	-	3	-	-	-	-
C14 Myristique	1	-	-	-	-	2	15	18	-	10	-	3	5	13
C16 Palmitique	10	9	10	3,5	5	22	8	9	24	3	13	24	15	22
C18 Stéarique	2	4	3	1,5	2	1	2	3	34	10	65	8	1	3
Divers	1	6	-	-	-	2	-	-	2	2	1	-	1	3
Total des acides gras saturés	14	19	13	5	7	27	83	91	60	64	79	35	22	41
2) Acides gras insaturés														
C16:1 Δ9 Palmitoléique	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	2	-	5	15	16

C18:1 Δ 9 Oléique	75	50	22	12	60	5	15	8	38	30	20	47	36	15
C18:2 Δ 9,12 Linoléique	8	30	56	13	23	20	1	1	-	2	-	10	-	1
C18:3 Δ 9,12,15 α -Linoléique	-	-	6,5	9	9	48	-	-	-	-	-	-	-	1
C20:4 Δ 5,8,11,14 Arachidonique	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	1
Divers	3	-	2	42	1,5	-	-	-	2	2	1	3	13	25
Total des acides gras insaturés	86	80	87	95	93	73	16	9	40	36	21	65	78	59

Ce tableau montre que les huiles végétales et animales sont pauvres en acides gras saturés. Un pourcentage entre 5 et 27% est noté dans le cas des huiles de sources végétales avec prédominance de l'acide Palmitique -C16- (plus de 71%), et varie entre 22 et 41% pour les huiles d'origine animale. L'acide Palmitique est le composé majoritaire. Il en est de même pour le corps humain dont le pourcentage d'acides gras saturés ne dépasse pas les 35% pour les personnes en bonne santé. D'autre part, les graisses végétales ou animales ont un taux trop élevé en acides gras saturés avec prédominance de l'acide Laurique (C12) dans les noix de Coco et le palmiste, tandis que l'acide Stéarique (C18) est majoritaire dans le Bœuf et le Cacao.

Les acides gras insaturés présentent des taux élevés en acide oléique (C18:1 Δ 9) (tableau 1.1), spécifiquement dans l'huile d'olive. L'acide Linoléique (C18:2 Δ 9,12) se trouve aussi avec des quantités importantes dans les corps gras de sources végétales telles que le Soya, contrairement aux graisses animales et végétales. La Luzerne est riche en acide α -Linoléique (C18:3 Δ 9,12,15).

1.3.2. Glycéro-lipides

Appelés aussi les acylglycérols, sont constitués principalement du glycérol. L'estérification de ce dernier par une, deux ou trois chaînes d'acides gras donne respectivement les mono-glycérides (MG), les di-glycérides et les triglycérides qui sont considérés comme la classe la plus importante des graisses animales et de l'huile végétale. Selon la combinaison et l'assemblage des acides gras sur le glycérol, le triglycéride aura une structure différente et un nom différent.

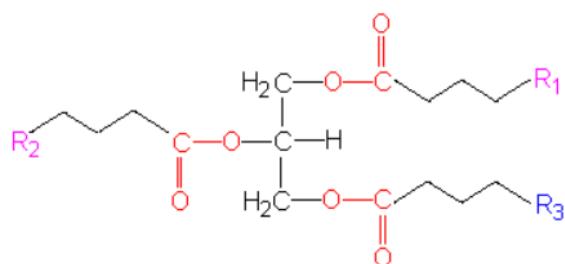


Figure 1.1 : Structure générale des triglycérides.

Les radicaux R_1 , R_2 , R_3 sont des acides gras ou d'autres groupements. Il s'agit de mono ou di-acylglycérols lorsque un ou deux radicaux sont des acides gras. Les triacylglycérols simples contiennent le même type d'acide gras dans les trois positions, leur nom correspond à celui de l'acide gras. A titre d'exemple le tri-oléine 000, un triglycéride où les radicaux R sont des acides oléiques. Ils se trouvent dans plusieurs substances naturelles telle que l'huile d'argan [21]. Les triacylglycérols mixtes comportent deux ou trois acides gras différents. La désignation d'un tel lipide nécessite que l'on précise la position des acides gras sur les carbones du glycérol tels qu'ils sont présents dans l'huile de tournesol [22]. Ces derniers constituent la majorité des corps gras naturels avec une spécificité de fonder progressivement sur une large plage de température [23]. Les mono et di-glycérides jouent un rôle en tant qu'intermédiaire dans le métabolisme des lipides au sein de l'organisme. D'autre part, les triglycérides constituent la forme essentielle de stockage des acides gras au sein des adipocytes ce qui explique leur présence en quantité importante [24].

1.3.3. Stérides

Stérides ou esters de stérol sont des composés d'origine animale obtenus par estérification d'un acide gras avec un alcool complexe le stérol. Le cholestérol est estérifié par l'acide palmitique, stéarique ou l'acide oléique. On le trouve généralement dans le sang où le rôle principale est de réduire les niveaux de lipoprotéine de basse densité (LDL) [25].

1.4. Extraction des lipides

L'extraction est une opération ancienne permettant d'avoir des principes actifs pharmaceutiques ou alimentaires issus de certains organes d'animaux ou de plantes. De par la caractéristique hydrophobe des corps gras, leur extraction fait appel à des

solvants organiques apolaires tels que le chloroforme et l'hexane, ce qui laisse dans certains cas une quantité non extraite de ces lipides emprisonnées par les protéines au sein d'agrégats (ensemble de particule qui empêche la libération des lipoprotéines). Cette opération est suivie d'un lavage par des solvants polaires permettant ainsi d'éliminer tous les composés de même nature tels que les protéines, sels...etc. Parmi ces méthodes, on cite :

1.4.1. Méthodes classiques

Parmi les principales méthodes appliquées depuis longtemps, une technique dite de référence pour évaluer l'efficacité des autres méthodes d'extraction solide-liquide. Elle a été employée et décrite pour la première fois par Franz Von Soxhlet en 1879 en déterminant la quantité des lipides dans le lait [26], [27].

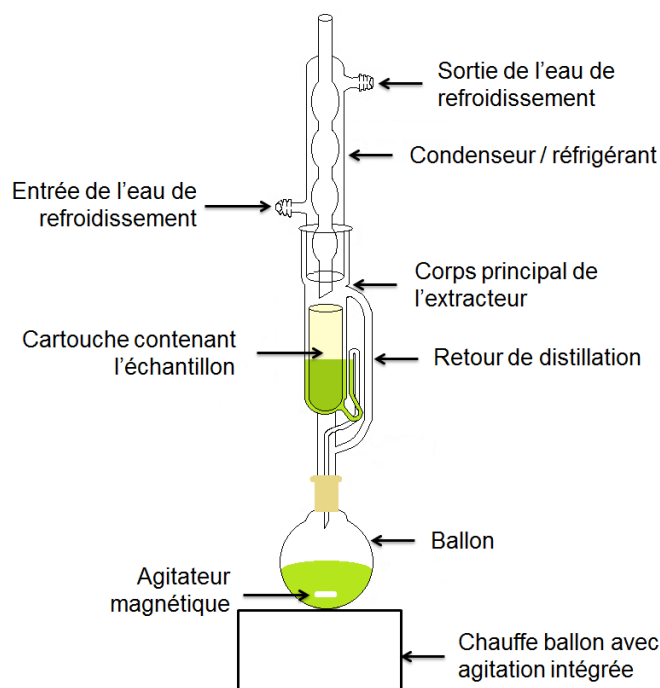


Figure 1.2 : Extraction par Soxhlet.

Elle consiste à choisir des matrices de tailles modérés en visant des substances non-volatiles à la température d'ébullition du solvant utilisé (généralement l'hexane)[28]. L'extraction par Soxhlet, de façon générale, convoite une durée de temps importante avant que l'équilibre ne soit atteint, en plus d'une consommation de grande quantité de solvant. Ce sont les principaux inconvénients de cette technique. D'autre part, la méthode de Folch [13] ou de Bligh et Dyer [29] est la plus répandue à l'échelle du laboratoire afin de déterminer la teneur en lipides totaux contenus dans la matrice

visée. Folch et al [13] ont utilisé un mélange de 2:1 chloroforme/méthanol (v\v). L'extrait issu des tissus animaux nécessite un lavage pour récupérer les lipides restants. Dans cette dernière, un temps long et une quantité importante de solvant sont nécessaires. Contrairement à cela, la méthode de Bligh et Dyer et al [29] conduit à un résultat similaire en une seule étape [30], ce qui réduit la quantité de solvant. Cette technique est généralement appliquée sur des matrices d'origine animales.

Dans le but de réduire le risque des solvants toxiques, Radin et al [31] ont proposé de remplacer ces derniers par d'autres de faibles toxicité tels que le mélange Hexane : isopropanol.

En outre le pressage mécanique ou extraction par pression (à froid ou à chaud) est l'une des méthodes appliquées depuis très longtemps par les anciens avec des outils classiques.

1.4.2. Méthodes Alternatives

a. Extraction assistée par ultrasons

Lorsque les vibrations générées par des ondes ultrasons deviennent au-delà de 20 kHz dans un milieu d'extraction, une diffusion du solvant dans les cellules de la matrice utilisée conduit à l'extraction des substances emprisonnées dans cette dernière. Cela est dû à l'effet des perturbations des parois par les ondes ultrasons, ce qui améliore l'opération d'extraction du point de vue rendement en induisant une grande pénétration du fluide [32]. Plusieurs facteurs peuvent influencer l'extraction ; la fréquence des ultrasons a un très grand effet sur le rendement d'extraction par rapport à la température, la pression, le temps d'application, la nature du solvant et la granulométrie [33], [34]. La fiabilité de cette méthode est prouvée par les résultats des études de Li et al [35], Salisová et al [36] et Chemat et al [37] lors de l'extraction des huiles végétales, des principes actifs, des huiles essentielles et des lipides à partir du soja (*Salvia Officinalis*), des plantes et des grains.

b. Extraction assistée par micro-ondes

Elle a été appliquée pour la première fois par Ganzler et al [38], utilisée pour la récupération des huiles essentielles, des arômes et des composés cosmétopharmaceutique à l'échelle pilote ou industrielle. Cette méthode repose sur le principe

de pénétration des micro-ondes qui sont des rayonnements électromagnétiques à travers la matrice biologique utilisée ce qui provoque une augmentation de la température des constituants polaires et l'eau présents dans le solide. Ce phénomène favorise la rupture des cellules par la libération du soluté dans la solution fluide avec un rendement comparable à celui obtenu par d'autres méthodes [39], [40]. Elle est devenue concurrentielle aux méthodes classiques du point de vue rendement, moins couteuse, temps d'extraction réduit et utilise moins de solvant.

c. Extraction par fluides supercritiques

Le Baron Cagniard de la Tour [41] est le premier qui a rapporté en 1822 l'existence d'un état appelé état supercritique des fluides. Il a constaté que la frontière gaz-liquide disparaît pour certaines substances traitées par chaleur dans un milieu fermé. Le diagramme de phase (pression-température) d'un corps pur présente trois états de la matière, solide, liquide et gazeux. Tous les corps possèdent un point critique correspondant à une température et pression bien déterminées comme schématisé sur la Figure 1.3.

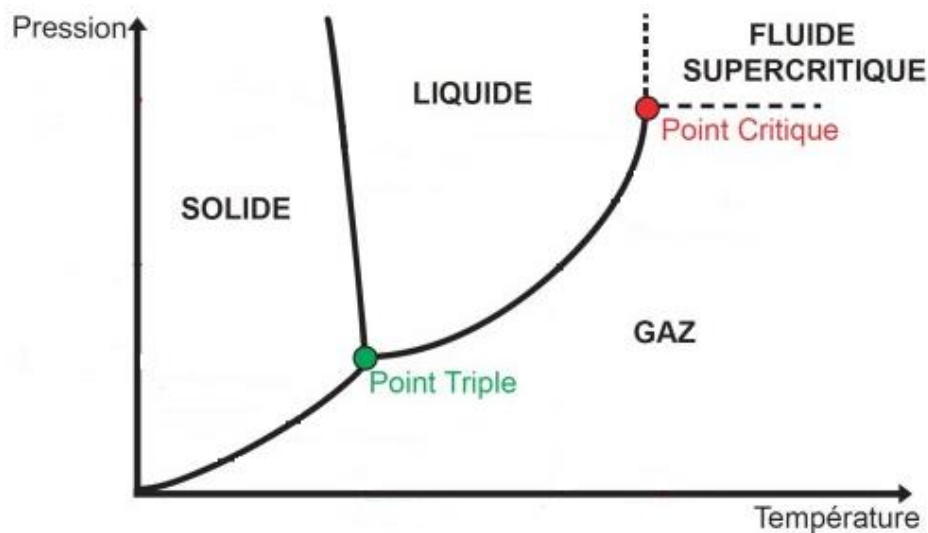


Figure 1.3 : Diagramme de phase (P, T) d'un corps pur.

Cette représentation montre que le comportement d'un fluide à son état supercritique est intermédiaire entre celui de l'état liquide et gazeux. Le tableau 1.2 rapporté par Pereda et al [42] montre les valeurs de quelques propriétés physiques d'un fluide dans les trois états gazeux, liquide et supercritique.

Tableau 1.2 : Comparaison des propriétés physiques d'un fluide dans ses trois états liquide, gaz et supercritique.

Propriété	Gaz	Supercritique	Liquide
Densité ρ (kg/m ³)	0,6 - 2	200 - 500	600 - 1600
Viscosité dynamique μ (mPa.s)	0,01 - 0,3	0,01- 0,03	0,2 - 3
Conductivité thermique λ (W/mK)	0,01 - 0,025	Maximum*	0,1 - 0,2
Coefficient de diffusion D (10 ⁶ m ² /s)	10 - 40	0,07	0,0002 - 0,002
Tension de surface σ (dyn/cm ²)	--	--	20 - 40

*La conductivité thermique présente des valeurs maximales autour du point critique, où elle dépend fortement de la température.

Ce tableau permet de voir qu'un fluide à son état supercritique présente une densité proche de celles des liquides, ce qui lui confère un pouvoir solvant proche de celui des liquides, une viscosité proche des gaz et un coefficient de diffusion intermédiaire entre celui des gaz et liquides engendrant un transfert de matière accru entre la matière à extraire et le solvant [43]. Contrairement à la conductivité thermique qui se présente à sa valeur maximale au voisinage du point critique, ces résultats conduisent à la définition de la capacité de solvation ou autrement dit « pouvoir solvant ». Autour du point critique, une importante compressibilité est notée. Ce qui induit à des masses volumiques (donc pouvoir solvant vis-à-vis des composés solubles) modulables en fonction des conditions de température et de pression. Dans la région supercritique, les propriétés des fluides varient aussi selon les conditions de pression et de température appliquées. L'augmentation de la pression au-delà de la du point critique (quatre fois et plus) entraîne une diminution de la diffusivité et une augmentation de la viscosité du fluide, ce qui est proche des propriétés des liquides [44]. Le tableau 1.3 regroupe quelques fluides utilisés dans l'extraction supercritique des substances naturelles.

Tableau 1.3 : Températures et pressions critiques de quelques solvants utilisés en extraction supercritique des substances naturelles.

Solvants	T _c (°C)	P _c (MPa)	Soluté Extrait	Références
Dioxyde de carbone	31,1	7,38	Huile de lin	(Pradhan <i>et al.</i> , 2010) [45]
Ethane	32,3	4,87	Beurre de cacao, caféine	(Mohamed <i>et al.</i> , 2002) [46]
Propane	98,6	4,25	Extraits de gingembre	(Catchpole <i>et al.</i> , 2003) [47]
Méthanol	239,6	8,09	Pesticides	(Capriel <i>et al.</i> , 1986) [48]
Ethanol	240,9	6,14	Cellulose	(Xueren et Jian <i>et al.</i> , 1999) [49]
Acétone	235,1	4,70	Acides gras du bois de hêtre	(Demirbas <i>et al.</i> , 1991) [50]
Hexane	234,5	3,01	Chaines aliphatiques	(Capriel <i>et al.</i> , 1990) [51]
Eau	374,1	22,06	Hydrocarbures aromatiques polycycliques	(Hawthorne <i>et al.</i> , 1994) [52]

De ce tableau, il est clair que le Dioxyde de carbone est le fluide recommandé dans l'extraction supercritique du point de vue conditions critiques facilement accessibles.

1.5. Caractérisation des lipides

L'analyse est une étape primordiale pour juger la fiabilité de la méthode d'extraction appliquée du point de vue quantitative et qualitative. De ce fait, le couplage de l'extraction par fluides supercritiques spécifiquement avec un système de caractérisation et/ou de quantification est préféré pour éviter toute modification de composition, perte ou contamination des extraits obtenus. Plusieurs méthodes ont été testées et validées ces dernières années pour répondre aux changements des paramètres du procédé d'extraction ; pression, température, temps d'expérience etc..., on cite les plus courantes :

- Chromatographie sur Couche Mince CCM.

- Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance HPLC
- Chromatographie Phase Gazeuse CPG
- Chromatographie Phase Gazeuse Couplée au Spectre de Masse GC/MS
- Spectroscopie Infrarouge IR.
- Chromatographie en Phase Supercritique SFC [18].

1.6. Application du CO₂ supercritique dans différentes industries

En plus des conditions critiques facilement accessibles, le CO₂ à son état supercritique présente d'autres avantages spécifiques. Il est ininflammable, non-toxique, disponible à faible coût,...etc. Tous ces facteurs ont accru son utilisation dans les industries Agro-alimentaire et pharmaceutique.

L'extraction des principes actifs est l'une des plus importantes applications de l'extraction par CO₂ supercritique dans l'industrie agro-alimentaire afin de répondre au besoin du marché mondial, l'un des composés les plus connus est la caféine du café. L'extraction de cette dernière a été appliquée à l'échelle industrielle pour la première fois en 1972 par Zosel [53]. La récupération de la caféine à la sortie de l'extracteur est faite par simple détente du CO₂ qui s'évapore à température ambiante. Le taux de caféine a été réduit à 0.02% en démarrant d'une valeur initiale entre 0.7 et 3%, sans extraire les composés aromatiques [12], de même pour la décaféination du Thé[54] . De ce fait, des applications de l'extraction des composés d'intérêts biologiques ont été élaborés telle que l'extraction de la nicotine contenue dans les feuilles du tabac [55], de la cocaïne à partir des feuilles de Coca [56], de la tagitinine en utilisant la partie aérée de la plante *Tithonia diversifolia* [57]...etc.

L'extraction d'arômes et de parfums ou de composés volatils contenus dans les plantes aromatiques tels que le thym, le jasmin, le romarin, la lavande, la vanille...etc. La demande de ces produits dans le marché mondial augmente de jour en jour au détriment des produits de synthèse. Les conditions opératoires appliquées lors de l'extraction par CO₂ supercritique de ces composés sont de 40-60 °C et de 100-300 bars de température et de pression respectivement, ce qui est bien adapté à la conservation des molécules thermosensibles pour avoir des extraits avec des profils aromatiques complets.

L'extraction des huiles essentielles issues des plantes, des grains ou des fruits font l'objet de plusieurs études grâce aux propriétés qu'elles possèdent et récemment

découvertes telles que : les activités antibactériennes, antifongiques, antioxydantes et anti-inflammatoires qui sont les cibles des industries cosmétique et pharmaceutique [58]. Généralement les extraits issus de cette méthode ou par la méthode conventionnelle « Hydro-distillation » sont similaires du points de vue composition, en notant une différence quantitative de certains composés tel que l'extrait de thym obtenu par SFE qui contient trois fois plus de mono terpène « Thymoquinone » que celui dans l'extrait par la méthode classique. Ce composé joue le rôle d'un anticancéreux, antioxydant et neuro-protecteur agissant sur l'ischémie cérébrale et la maladie d'Alzheimer [59],[60].

L'extraction des sous-produits de l'industrie agroalimentaire pour récupérer des molécules de haute valeur ajoutée et qui présentent des propriétés nutraceutiques et physiologiques importantes telles que l'activité antioxydante, anti-diabète, anti-obésité etc... Ces sous-produits recouvrent les grains, les peaux, les noyaux, les akènes [61].

Le CO₂ supercritique peut aussi être utilisé pour la stabilisation des jus de fruits, à titre d'exemple le jus d'orange. Le nuage qui prédomine dans ce dernier est composé majoritairement de protéines et il est le responsable de la couleur, la saveur (goût), la turbidité et les arômes présents dans le jus d'orange. Ce nuage peut précipiter en présence de l'enzyme « pectinestérase » formant des dérivés avec les cations de calcium induisant des molécules lourdes. Le traitement par CO₂ supercritique est l'une des méthodes appliquées pour remédier à cette précipitation en gardant la qualité sensorielle du jus d'orange [62].

Une autre application du CO₂ supercritique qui sert à éliminer des composés indésirables dans les produits agro-alimentaires tels que les pesticides qui peuvent causer des problèmes de santé au consommateur.

Ces applications peuvent être résumées dans le schéma ci-dessous, rapporté par Brunner [63].

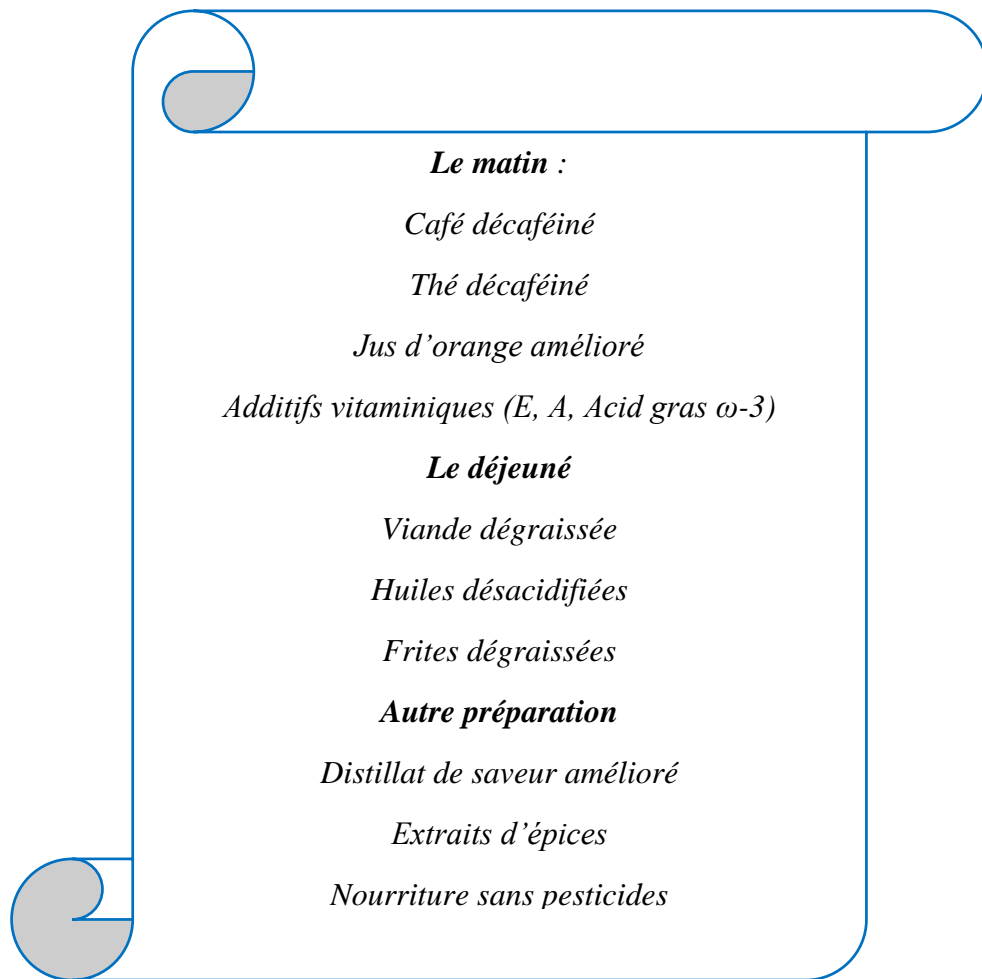


Figure 1.4 : Technologie des fluides supercritiques appliquée à la nourriture quotidienne.

1.7. Extraction des lipides par CO₂ supercritique

Tenant compte des applications citées précédemment du CO₂ supercritique dans le secteur agro-alimentaire, l'extraction des corps gras ; huiles ou cires de sources végétales et graisse de sources animales, est très répandue dans le marché mondial comme montré dans les figures 1.5 et 1.6.



Figure 1.5 : Unité industrielle d'extraction par CO₂ supercritique des huiles alimentaires (Natex, Allemagne).



Figure 1.6 : Unité industrielle de désacidification des huiles par CO₂ supercritique (Espagne).

Le tableau 4 suivant regroupe des exemples d'extraction par CO₂-SC de la matière grasse de différentes sources, en indiquant les conditions opératoires optimales conduisant à un rendement maximal.

Tableau 1.4 : SFE des corps gras à partir de sources animales et végétales.

Matrices	Soluté Ciblé	Conditions Expérimentales		Rendement Maximal de l'extraction	Références
		Pression (Bar)	Température (°C)		
1- Sources Animales					
Œuf	Lipides Cholestérols	310	45	56.18 % 14.29 %	[64]
Lait	Matière grasse	100-350	50-70	-	[65]
		241	40-80		[66]
Bœuf	Lipides	103-310	35-50	71.2%	[67]
	Acides gras	103-276	40	-	[68]
Sardine	Acides Gras	100-350	40-80	10.36 %	[69]
		126-180	40-48	-	[70]
Viande	Lipides totaux	370	50	-	[71]
Peau de Poisson <i>maquereau indien</i>	Huile	200-350	45-75	53.2 %	[72]
Filets de Poisson <i>maquereau atlantique</i>	Lipides	345	35	-	[73],[74]
		207-345	35	58%	[75]
Sous-produits de Poisson <i>Merlu</i>	acides gras	180-577	40	96%	[76]
Crevette	Lipides	350	40	-	[77]
		200-400	40-60	64%	[78]

Bœuf haché	Lipides totaux	520	100	-	[79]
Coquille de Pétoncles (<i>Patinopecten yessoensis</i>)	Lipides Cholestérols	280	50	78.3% 25.87%	[80]
Placenta de chèvre	Lipides Cholestérols	200-400	40-60	21.02% 8.46 %	[81]
2- Sources Végétales					
Microalgues	Lipides	350	40	33.9%	[82]
Noix de Muscade	Huile	100-200	40-50	-	[83]
Sésame	Huile	250-350	50-70	85%	[84]
Tournesol	Huile	200-600	50-80	-	[85]
		350-520	40-80	54.4 %	[86]
		200-400	60-100	54.7 %	[87]
Graines de Colza	Huile	300	40	-	[88]
		300	40	12.8 %	[89]
		350-520	40-80	50.5 %	[86]
Grignon d'olive	Huile	300	40		[89]
		75-350	40-60		[90]
Graines de Rose Musquée	Huile	300-500	40-60	7.1%	[91]
		300-700	60	-	[92]
		103-689	40-70	7.4%	[93]
Pépin de raisin	Huile	280	40	12 %	[94]
		280-550	40	12 %	[95]
		300-400	35-40	6.2%	[96]
		350	40	13.42%	[97]
Graines de Citrouille	Huile	151.6-344.5	35-75	30.7%	[98]
		180-200	35-45	43.5%	[99]
		150-300	35-50	-	[100]

Graines de pêche	Huile	150-250	40	18%	[101]
		150-198	40-51	30%	[102]
		100-300	50-70	24%	[103]
Noix	Huile	200-400	50-70	-	[104]
		180-234	35-48	-	[105]
Noisette	Huile	180-234	35-48	-	[106]
		150-600	40-60	59%	[107]
Noyaux de Palmiste	Huile	207-483	40-80	49%	[108]
Fruits de Palmier	Huile	140-300	40-80	77.8%	[109]
Graines de lin	Huile	300	50	35.3%	[45]
		413-620	100	41%	[110]
		213-550	50-70	25%	[111]
		300-500	50-70	24.6%	[112]
		250	50	28.8%	[113]
Pelure de Banane	Lipides totaux	100-300	40-50	6.9 %	[114]
Graines de Cotton	Huile	350-550	60-80	43.16%	[115]
Soja	Lipides totaux	100-380	40-60	19.9%	[116]
		517-620	100	20.2%	[79]
Fruit de <i>Buriti</i>	Lipides totaux	200-300	40-55	7.8 %	[117]
Graines de Thé	Huile	300-400	60-80	31.6 %	[118]
Oignon	Huile	160-240	35-45	4.69%	[119]
Graines de céleri	Huile	100-200	45	23%	[120]

Graines de Carthame (Safflower)	Huile	220-280	35-60	-	[121]
Graines de Café	Huile	150-350	40-60	15.4%	[122]
Graines de Lavande	Huile	200-300	50-70	35.56%	[123]
Graines de Cumin Noir	Huile	200-300	40-70	31.7%	[124]
		200-500	40	28%	[125]
Riz	Huile	345-689	40-80	25%	[126]
		100-400	50-60	20%	[127]
Ginseng	Huile	104-312	35-60	10.7%	[128]
Graines de Cantaloup	Huile	600	40	30.4%	[129]
Avocat	Huile	420-450	40-45	62.87%	[130]
Graines de persil	Huile	100-150	35-45	31%	[131]
Graines de Poivre	Huile	160-260	35-50		[132]
		90-150	40-50	12%	[133]
Amande	Huile	330	50	65%	[134]
		350-550	35-50	98%	[135]
Noyaux d'Abricot	Huile	300-600	40-70	48%	[136]
		300-450	40-60	26%	[137]
Graines de Cerise	Huile	180-220	40-60	8%	[138]
Graine de Grenade	Huile	132-468	33-66	14.02%	[139]
Fruit de Chêne	Huile	180	40	-	[140]
Jojoba	Huile	300-600	70-90	52%	[141]

* le rendement rapporté est en pourcentage massique (wt%).

Ce tableau résume l'application du procédé extractif par CO₂ supercritique, afin d'extraire la matière grasse contenue dans plusieurs substances de nature différente ;

animales et végétales, en rapportant les conditions opératoires de pression et de température ainsi que le rendement obtenu pour chaque soluté ciblé avec sa référence.

1.8. Conclusion

Cette revue bibliographique nous a permis d'éclaircir le sujet abordé dans cette étude en mettant en exergue : le choix de la classe lipidique à traiter, la sélection de la ou des matrices appropriées, l'élection de la technique la plus recommandée.

CHAPITRE II

CHAPITRE II :

MATERIELS ET METHODES

2.1. Introduction

En se basant sur la recherche bibliographique menée et rapportée dans la partie précédente, l'identification des systèmes à utiliser lors de cette étude a pu avoir lieu. Par conséquent, ce chapitre vient pour décrire les matrices, leurs origines, leurs compositions en matière grasse et les méthodes appliquées dans ce travail afin d'extraire les lipides en utilisant la méthodologie des plans d'expériences.

PARTIE 1 : MATERIELS

2.2. Sérum humain

2.2.1. Sang

Environ 8 % du poids total du corps humain est dû au volume sanguin, ce qui est équivalent à un volume de 5 litres pour un adulte mâle de 70 kg. C'est un liquide de couleur rouge qui sert à transporter non seulement les composés nécessaires aux membranes du corps mais aussi l'oxygène. Ce liquide est constitué principalement de : plasma, globules rouges, globules blancs et plaquettes[142].

- Le plasma est la fraction liquide présente dans le sang avec une portion de 55% du volume total, avec un aspect peu visqueux, de couleur jaune chez le sujet sain. Il est composé en majeure partie d'eau avec 90 % et approximativement 7% de protéines, le reste correspond aux lipides, aux sels minéraux, aux ions (cuivres, calcium, ...etc.), aux vitamines, aux hormones, aux carbohydrates tels que le glucose,...etc.[4]. La récupération de cette fraction se fait par centrifugation du sang soit on jette le reste ou on le réintroduit dans le corps ce qui est appelé un prélèvement par plasmaphérèse. La phase extraite doit être conservée directement au congélateur à -18°C aux premières heures dans le but d'éviter toutes sortes de dégradation de sa composition. La durée de conservation du plasma est de 5 ans pour des applications futures [143].

- Les globules rouges également appelés érythrocytes ou hématies, sont des petites cellules anucléées sous forme de disques biconcaves, ayant un diamètre de l'ordre de 7 μm avec une épaisseur de 2 μm . Elles sont présentes dans le sang à une concentration d'environ 5 millions de cellules par millimètre cube. Leurs renouvellement se fait chaque 120 jours maximum du fait qu'elles sont dépourvues de noyaux. Le rôle principal de ces globules est de transporter de l'oxygène par le biais d'une liaison avec le fer présent dans l'hémoglobine [144].
- Les globules blancs ou leucocytes, sont principalement impliqués dans les réponses du système immunitaire. Elles se trouvent à une concentration de 5000 – 10000 cellules par μL . Selon la forme et la taille du noyau, ces globules sont subdivisés en trois types :
 - Les monocytes présentent avec une fraction de 10% du total de leucocytes. Ils ont un volume important par rapport aux autres types (un diamètre entre 15 - 25 μm), un noyau courbé et un cytoplasme riche en organites.
 - Les lymphocytes qui sont de faibles tailles (diamètre de 8 à 17 μm), deux noyaux de forme circulaire et un cytoplasme pauvre en organites avec une fraction de 22 % du total des globules blancs.
 - Les granulocytes (polynucléaires) de taille moyenne avec un diamètre de 15 – 18 μm . Ils contiennent des noyaux très segmentés, un cytoplasme riche en lysosome et ont un pourcentage d'environ 65% [142], [144].
- Les plaquettes ne sont pas en réalité des cellules mais seulement des fragments de cellules de tailles très importantes, retrouvées dans le sang avec une quantité de 150000 à 450000 par millimètre cube. Elles comportent seulement des enzymes actives et des mitochondries au lieu du noyau et de l'ADN, assurant la fonction de coagulation du sang [145].

Dans ce travail, nous nous intéressons au sérum déduit du sang humain présentant une composition différente de celle du plasma. Cette différence est due à la méthode de récupération des deux extraits, le plasma nécessite du sang frais en présence de l'anticoagulant avant l'étape de centrifugation, contrairement au sérum obtenu après centrifugation du sang coagulé. Ce dernier a un aspect semi-solide en l'absence d'anticoagulants (voir figure 2.1).

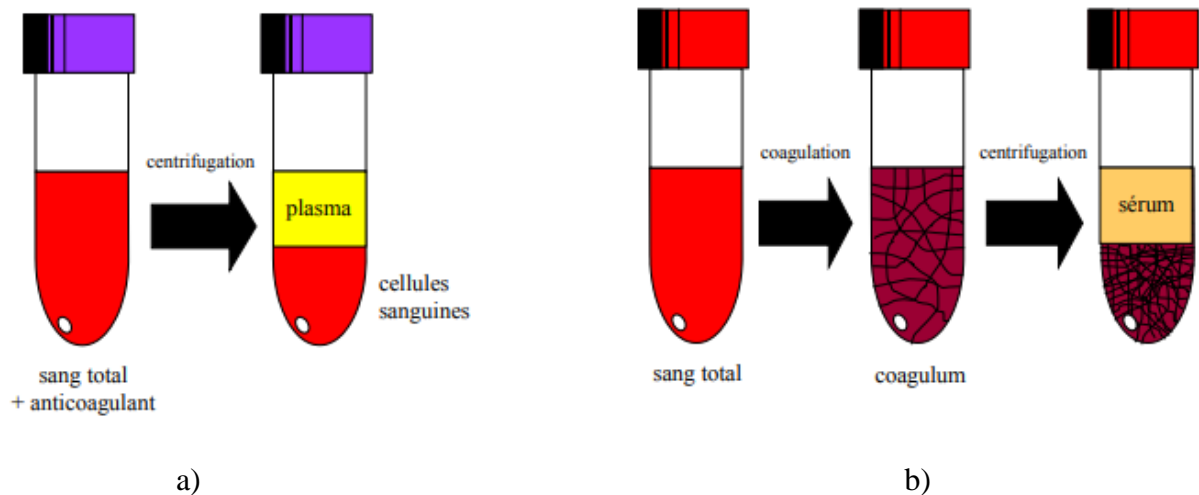


Figure 2.1 : Préparation du a) plasma, b) sérum issu du sang frais.

La différence entre ces deux méthodes de préparation affecte la composition des extraits ; certains composés tels que le glucose sont consommés lors de la coagulation, ce qui engendre à un abaissement du taux de ce composé dans le sérum par rapport au plasma, contrairement au potassium, au phosphate et aux autres composés présents en quantités plus importantes dans le sérum suite à la coagulation. De plus le plasma contient un agent anticoagulant. L'utilisation du plasma ou du sérum impose la méthode adéquate pour éviter les interférences qui peuvent être générées par l'anticoagulant dans le cas du plasma.

2.2.2. Lipides sanguin

Comme défini précédemment, les lipides sont des molécules hydrophobes qui comprennent les triglycérides, les phospholipides et le cholestérol. Ces derniers peuvent être retrouvés dans l'organisme à travers des milieux aqueux (sang, lymphe) qui circulent sous sa forme libre, indispensables dans la synthèse des membranes cellulaires, ou sous la forme estérifiée pour être transportés par des lipoprotéines et entre comme substrat dans la synthèse des hormones stéroïdiennes, de la vitamine D dans la peau et des acides biliaires dans le foie. Selon la classe des lipoprotéines, le cholestérol prend deux chemins :

- Lorsque les lipoprotéines de basses densités (LDL) transportent le cholestérol. Ils démarrent du foie vers les cellules. Ce dernier est connu sous le nom de mauvais cholestérol ou LDL-cholestérol.

- Dans le cas contraire, le cholestérol est éliminé par la bile. Il s'agit du bon cholestérol connu sous HDL-cholestérol. Son transport est assuré par les lipoprotéines ayant des densités élevées(HDL).

2.2.3. Risques lipidiques sur la santé

Le cholestérol LDL, le cholestérol HDL et les triglycérides sanguins peuvent devenir des facteurs de risque sur la santé, ainsi que d'autres facteurs tels que l'âge, le sexe, le régime de vie quotidien...etc. Les études antérieures ont montré que l'excès de cholestérol est l'ennemie fatale de nos artères car il se dépose sur leurs parois, particulièrement celles du cœur (artères coronaires), du cerveau et des jambes en déclenchant un infarctus du myocarde (crise cardiaque), des accidents vasculaires cérébraux ou des artérites des jambes.

Il est considéré que l'hypercholestérolémie est diagnostiquée lorsque le taux de cholestérol total dépasse ou est égal à 2.20 g/l. La valeur limite de HDL est de 0.45 g/l chez l'homme et de 0.55 g/l chez la femme, celle des triglycérides est comprise entre 1.50 et 2 g/l en fonction de l'âge. Le LDL est déduit des deux précédentes [146]. Une bonne santé donc nécessite un bon contrôle du taux de ces lipides en limitant la consommation des graisses d'origine animale telles que : beurre, fromages, viandes grasses, etc., en plus des pâtes, du chocolat, de l'huile de palme, en les remplaçant par des légumes, des fruits, des poissons,...etc.

Dans ce travail, les lipides (triglycérides et cholestérol) sont extraits du sang humain après un prélèvement sanguin de 200 mL au CHU Ibn Badis de Constantine Ce dernier est stocké à -20 °C pour éviter toute dégradation.

2.3. Fruits d'Olives

2.3.1. Historique

L'olivier est considéré comme l'un des arbres rares qui occupent une place prédominante dans l'arboriculture fruitière des pays du bassin méditerranéen. Son aspect historique se confond avec celle des civilisations de cette partie du monde. L'origine de cet arbre remonte au IV^e millénaire avant JC en Afrique du Nord, en Phénicie et en Syrie, ensuite dans d'autres pays méditerranéen connus à savoir le Palestine, l'Égypte... suite aux échanges commerciaux. Le rôle majeur retourne aux Grecs puis aux Romains qui ont participé à l'extension de l'aire oléicole dans tous les

pays côtiers de la méditerranée dont le climat, le sol et la pluviométrie étant des agents favorisant cette variété de plante [147]. Ses bienfaits nutritifs et curatifs ne sont pas à démontrer vu que l'extrait huileux des fruits de l'olivier (huile d'olive) peut être utilisé directement en tant que source principale de lipides. Ses applications sont multiples ; en médecine, en cosmétologie, ...etc.[148],[149], [150].

L'appellation scientifique *Olea Europaea* désigne l'olivier dans la région de la méditerranée vue l'élargissement de sa culture ces dernières années (en Amérique et en Chine). En Algérie, l'olivier occupe une superficie de 165 000 ha approximativement avec un rendement moyen en fruit de 08 quintaux/ha ce qui est faible par rapport aux pays voisins (Le Maroc et la Tunisie). Cela est dû au vieillissement des arbres. Concernant la production d'huile d'olive, l'Algérie détient la 9^{ème} place mondiale, avec une répartition des arbres concentrés au centre du pays ; la région de la Kabylie, avec un pourcentage de 58.4% de la totalité de l'olivi-culture où le climat est adéquat pour la culture de *Olea Europaea* [150], [151].

2.3.2. Variétés d'olivier

Les pays qui entourent le bassin méditerranéen disposent de plusieurs variétés de l'olivier qui ont une diversité phénotypique importante. Généralement, elles sont divisées en trois classes [152]:

- Olives principalement destinées pour l'extraction de l'huile, dont le rendement varie entre 16 à 18% d'une variété à une autre (Chemlal, Blanquette de Guelma et Limli).
- Olives de table : Cette catégorie regroupe Sigoise, Sofiana et Beskri, ...etc. Les fruits sont destinés à la consommation alimentaire.
- Variétés à usage multiple telles que Bouchouk, Azeradj et Aghchren de titest...etc.

2.3.3. Fruits d'olives :

Ce sont des drupes plus ou moins ellipsoïdales de taille variable. Ils sont composés de graine (endocarpe + noyau), de pulpe (mésocarpe) et de cuticule (épicarpe) comme le montre la figure 2.2. La composition chimique des olives varie en fonction de la variété, des conditions climatiques et de la région de culture. Le tableau 2.1 résume la composition des fruits d'olive.

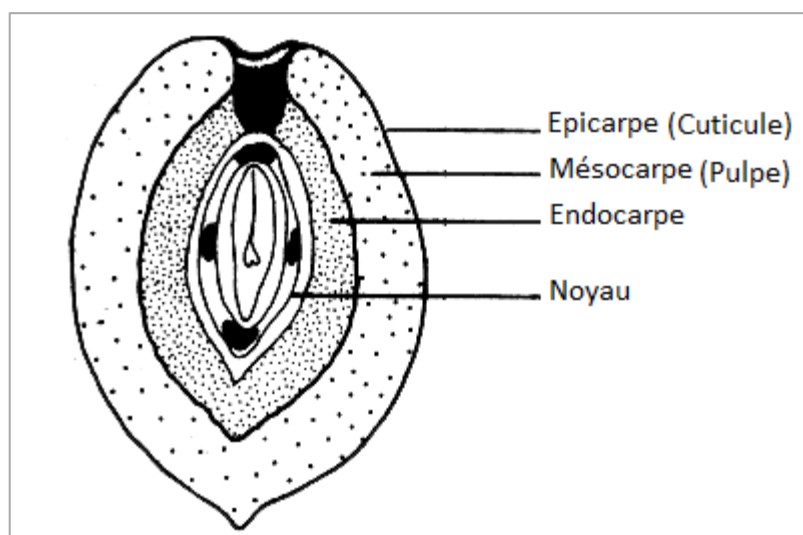


Figure 2.2 : Structure d'une drupe, l'olive[153].

L'épiderme ou la cuticule représente 2 à 2.5%, le noyau et sa paroi constituent 20 à 28.5% du poids sec de l'olive. 71.5 à 80.5% sont de la pulpe (mésocarpe).

Tableau 2.1 : Composition du fruit d'olives[153].

Constituants	Eau (%)	Lipides (%)	Protides (%)	Glucides *	Cendres (%)
Partie anatomique	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Pulpe (épiderme + mésocarpe)	24.2	56.40	6.8	9.9	2.66
Coque de noyau	4.2	5.25	15.6	70.3	4.16
Noyau	6.2	12.26	13.8	65.6	2.16

2.3.4. Huile d'olive

C'est un liquide transparent, jaune ou jaune verdâtre, avec une odeur caractéristique et un goût fade. Il devient trouble avec un aspect semi solide semblable au beurre à 0 °C. Le rendement en huile extraite par les méthodes conventionnelles varie entre 15 et 22% selon la variété d'olivier et le stade de maturité des fruits utilisés. L'huile d'olive est considérée depuis des millions d'années comme l'or liquide des pays méditerranéens [154].

Plusieurs qualités d'huile d'olives sont distinguées. En se basant sur le critère d'acidité, nous retrouvons quatre classes principales [155]:

- Huile d'olive vierge extra : l'indice d'acidité exprimé en acide oléique est inférieur à 0.8 g/ 100g d'huile. Cette huile est la meilleure pour la consommation. Elle est chère et nécessite des conditions spécifiques lors de l'extraction.
- Huile d'olive vierge : Avec une acidité inférieure à 2 g/100g d'huile, cette classe est la deuxième dans le marché international.
- Huile d'olive vierge lampante : Caractérisée par sa haute acidité, supérieure à 2g/100g d'huile, classée comme impropre à la consommation et nécessite un raffinage.
- Huile de grignons d'olives : généralement ce type est d'une acidité inférieure à 1 g/100 g d'huile, obtenue par extraction par solvant des grignons issus des olives pré-pressées. Cette huile a un aspect différent de l'huile d'olive citée au-dessus où l'ajout d'une quantité bien définie d'huile d'olive vierge donne une saveur, une couleur et un contenu en antioxydants acceptable pour sa commercialisation.

2.3.5. Composition de l'huile d'olive

En plus des caractéristiques sensorielles de l'huile extraite des fruits d'olives telles que le goût amer, la fruité, le parfum délicat et unique, la sensation piquante...etc., la composition chimique spécifique a son importance dans l'industrie agro-alimentaire. On distingue deux catégories de composés : une fraction saponifiable (triglycérides, acides gras) et l'autre insaponifiable.

- Fraction saponifiable :

Représente 98% de l'huile. Elle est constituée essentiellement d'acides gras sous forme de triglycérides avec la présence de quelques radicaux libres.

- Fraction insaponifiable :

Contient des constituants naturels tels que ; les tocophérols (vitamine E), les stérols, les composés phénoliques (antioxydants), les alcools aliphatiques, les tri-terpéniques, et les arômes...etc.

2.3.6. Bienfaits de l'huile d'olive

L'utilisation de l'huile d'olive en médecine date depuis longtemps, sa haute teneur en acide gras mono-insaturé est un atout du point de vue nutritionnel et médicinal ; essentielle au maintien de nombreuses fonctions physiologiques de

l'organisme. La proportion élevée de l'acide oléique dans cette huile ne limite pas l'abaissement du taux de cholestérol dans le sang, au contraire il joue un rôle préventif face aux problèmes cardiovasculaires. Les études de Keys et al [156] et Kratz et al [157] ont montré qu'un régime nutritionnel riche en acides gras mon-insaturés fait réduire le cholestérol total et le cholestérol des lipoprotéines de basse densité (LDL) et augmenter le taux du cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL) qui ont un effet protecteur contre l'athérosclérose.

2.3.7. Matière première utilisée

Dans cette étude la variété Chemlal est sélectionnée et utilisée. C'est la variété la plus répandue en Algérie avec un pourcentage moyen de 40% du verger oléicole algérien. Elle est destinée principalement à la production de l'huile avec un rendement caractéristique de 18 à 22%. Cette variété est caractérisée par une bonne production avec une floraison précoce et une maturation tardive des fruits [158].

Les fruits d'olives utilisés sont récupérés à l'Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière ITAF qui appartient à l'état et se situe à Hamma-Bouziane Constantine, spécialisé en l'approvisionnement des plantes et des arbres fruitiers de variétés bien définies. La récolte est faite manuellement en Janvier 2016 afin de préserver la qualité des fruits et de l'huile. La moindre affectation des fruits fait augmenter l'acidité de l'huile qui entraîne une diminution de la qualité de ce dernier. Aussi pour la période de la récolte qui est un facteur limitant. Une bonne qualité de l'huile se traduit par une faible acidité. Donc, le stade adéquat de maturation des fruits correspond à une couleur vert-violette. Ceci n'est pas le cas des fruits de couleur noir qui donnent un rendement maximal en huile avec une acidité élevée.



Figure 2.3 : Variété d'olive Chemlal.

PARTIE 2 : METHODES

2.4. Extraction des lipides totaux, cholestérol et triglycérides

2.4.1. Protocole d'extraction

La composition initiale du sérum humain en cholestérol, cholestérol-HDL, cholestérol-LDL et des triglycérides est déterminée par une analyse préliminaire.

En se référant à la littérature : la méthode de folch et al [13] est l'une des méthodes les plus répandues pour extraire les lipides de source animale en utilisant des solvants moins toxiques.

Elle consiste à mélanger 1 ml de sérum avec 10 ml d'un mélange de chloroforme et de méthanol avec un ratio de (2/1) en volume. Ce mélange est agité puis séparé par centrifugation à une vitesse de 2500 trs/m pendant 10 minutes pour assurer une séparation des phases par gravimétrie. Après cette étape, les phases résultantes sont analysées pour déterminer la composition en matière grasse.

Une deuxième méthode est celle de Baldoni et al [159] en utilisant d'autres solvants comme l'hexane ou le mélange hexane-isopropanol. Un volume de 1 ml de sérum est mis avec 9ml du mélange hexane-isopropanol (2/1). Le mélange est agité pendant 20 secondes puis centrifugé à 2500 trs/m durant 10 minutes à température ambiante. La phase organique est séparée puis analysée.

2.4.2. Analyse du taux de lipides sériques

Basée sur la méthode d'analyse biologique décrite par l'association SPINREACT sous la référence ISO 9001. Elle est utilisée dans les domaines biologiques au niveau des laboratoires d'analyses médicales et des hôpitaux. Chaque composé lipidique se fait analysé séparément en appliquant les mêmes étapes aux échantillons avant et après extraction.

Concernant les triglycérides, un volume de 1 ml a été pris de l'échantillon à analyser et ajouté à une quantité de 10 µl du standard spécifique aux triglycérides. La solution obtenue est ensuite mélangée puis analysée par un spectrophotomètre Ultra-violet visible (UV-visible). Ce dernier est réglé à une longueur d'onde de 505 nm en faisant la lecture de l'absorbance du standard spécifique et de la solution à analyser.

La quantité des triglycérides est calculée par la formule suivante :

$$\frac{\text{Absorbance de l'échantillon}}{\text{Absorbance du standard}} \times 200 = \text{concentration des triglycérides} \quad (2.1)$$

200 représente la concentration du standard en mg/dl.

Notons que la valeur des triglycérides dans le sang humain d'un corps en bonne santé est comprise entre 40 – 160 mg/dl pour l'homme et 35 – 135 mg/dl pour les femmes.

Le même protocole est appliqué pour la détermination du taux de cholestérol total en utilisant seulement le standard spécifique à ce composé.

Les valeurs de références du taux de cholestérol dans le sang sont :

- < 200 mg/dl valeur normale.
- Entre 200 et 239 mg/dl valeur limite ;
- Lorsque le taux est supérieur à 240 mg/dl, cela signifie que le cholestérol indésirable est en excès dans le sang et nécessite un traitement rapide.

Le pourcentage du cholestérol-HDL est calculé par l'équation (2.1) en utilisant le standard spécifique à ce composé et dont la concentration est soit :

- 320 mg/dl en faisant la lecture d'absorbance sous UV-visible à une longueur d'onde de 505 nm.
- 475 mg/dl si la lecture sous UV-visible est faite à 546 nm.

Les valeurs limites du taux de cholestérol – HDL sont :

- Lorsqu'il est supérieur à 55 mg/dl et à 65 mg/dl chez l'homme et les femmes respectivement, le risque est minimum.
- Les valeurs normales se trouvent entre 35 – 55 mg/dl chez l'homme et entre 45 – 65 mg/dl chez les femmes.
- Si le taux est inférieur à 35 mg/dl ou à 45 mg/dl chez l'homme et les femmes, un traitement rapide est nécessaire.

Le calcul de la quantité de cholestérol LDL dans le sang dépend de la moyenne des résultats précédents selon la formule suivante :

$$\text{LDL cholestérol} = \text{Total cholestérol} - \text{HDL cholestérol} - (\text{Triglycérides} / 5) \quad (2.2)$$

Le taux de cholestérol LDL est dit élevé si la valeur est de l'ordre de 190 mg/dl ou plus. Si la valeur est inférieure ou égale à 150 mg/dl, le taux de cholestérol LDL doit être contrôlé.

2.5. Extraction de l'huile d'olive

Après récolte, les fruits sains et saufs sont lavés et séchés afin d'éliminer les impuretés, puis stockés dans un congélateur à -20 °C pour éviter toute dégradation des constituants.

2.5.1. Séchage et broyage

La thermogravimétrie est une méthode qui sert à déterminer le taux d'humidité dans une matrice solide. Dans notre cas, elle est réalisée dans un analyseur électronique modèle IR-60 fourni par Denver Instrument Allemagne (figure 2.4). Le principe de fonctionnement consiste à chauffer la matrice par une résistance électrique en déterminant la masse de l'échantillon à chaque instant jusqu'à ce qu'elle se stabilise (perte en masse devient nulle). La teneur en humidité résultante pour notre cas est de l'ordre de 28% en fixant la température de l'analyseur à 105 °C.

Après avoir déterminé la teneur en eau contenue dans les fruits d'olives, ces derniers sont mis dans l'étuve à une température de 40°C pendant 24 heures. L'étape suivante consiste à les broyer à l'aide d'un broyeur domestique.



Figure 2.4 : Analyseur d'humidité

2.5.2. Principe d'extraction

Le pilote d'extraction, qui est au Laboratoire de l'Ingénierie des Procédés de l'Environnement LIPE (figure 2.5) est conçu en acier inoxydable fourni par Separex modèle SF2-4219 (Champigneulle, France). Il est destiné à l'extraction par fluide supercritique des substances naturelles contenues dans différentes espèces ; plantes, graines, fruits, tissus d'origine animale...etc., avec des pressions maximales de l'ordre de 700 bar.



Figure 2.5 : Pilote d'extraction par fluides supercritiques au niveau du LIPE.

Cet équipement est composé d'une pompe opérant à un débit variable entre 50 et 250 g/min, un système de chauffage électrique situé avant l'extracteur, un autoclave

d'extraction de volume de 2 litres (25 et 10 cm de diamètre et hauteur respectivement) émergé dans une enveloppe en acier pour chauffage dont les conditions de pression, de température et du débit sont contrôlés par des vannes. A la sortie de cet extracteur se trouve deux séparateurs pour la récupération du soluté et pour le recyclage du CO₂.

2.5.3. Choix des conditions opératoires

Le choix des conditions opératoires est fixé sur la base des résultats des études antérieurs et après certains essais expérimentaux. Dans cette étude la pression et la température ne doivent pas excéder 300 bars et 60 °C. Le temps d'extraction est fixé à 180 min. Au-delà de cette durée, la variation du rendement est presque négligeable.

Les premiers essais sont effectués sur des fruits d'olives de la variété Chemlal non traités comme ceux réalisés par Al-Otoom et al [160] à différentes conditions opératoires. Néanmoins, aucun extrait n'est obtenu. Cela nous a conduit à tester des fruits d'olives cisailés au niveau de la pulpe. Quelques gouttelettes d'huile sont récupérées après un temps important. Pour la suite des expériences, nous avons travaillé avec des fruits broyés dans le but d'améliorer le rendement d'extraction.

2.5.4. Extraction de l'huile d'olive par CO₂ supercritique

Au démarrage, le système d'extraction comme schématisé dans la figure 2.6 est nettoyé avec du méthanol, puis par du CO₂ pendant 2 à 3 min afin d'éliminer toutes impuretés pouvant altérer la qualité de l'huile à extraire. Cette étape est répétée après chaque expérience.

Initialement, une masse constante de 50 grammes de fruits d'olives broyés est introduite (la quantité est la même le long de l'étude) dans le basket d'extraction. Cette dernière est délimitée par deux disques perforés permettant le passage du fluide sans entrainement des particules. Le cylindre est ensuite introduit dans l'extracteur.

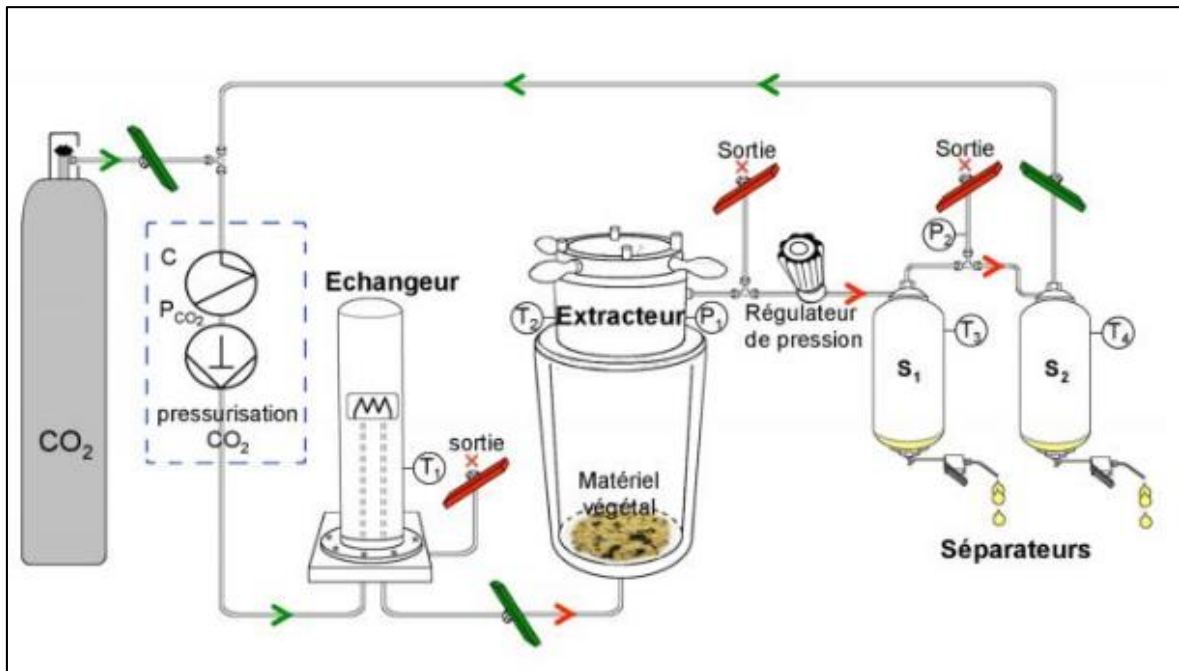


Figure 2.6 : Schéma du procédé d'extraction par FSC.

Ensuite, le CO₂ est pompé en continu dans l'extracteur avec un débit fixe de 50 g/min. Le dioxyde de carbone supercritique pénètre dans la matrice végétale depuis le bas de l'extracteur. La phase supercritique chargée est entraînée dans les deux séparateurs en série où le CO₂ subit une dépression causant la libération de l'huile d'olive. La collecte des extraits se fait au fur et à mesure [161].

La température et la pression dans les séparateurs sont d'environ 30 °C et 70 bars, respectivement. Elles sont réglées légèrement au-dessous de la température et de la pression critique du CO₂ afin de permettre à ce dernier le passage à l'état gazeux évitant ainsi l'entraînement des composants volatils dans l'extrait.

L'huile d'olive est recueillie dans un flacon à la sortie des séparateurs. Dans toutes les expériences, l'extraction par CO₂ supercritique est réalisée en mode dynamique. Le rendement est défini comme le rapport de la masse de l'huile extraite à la masse d'olives introduite initialement dans chaque expérience. Les conditions de fonctionnement sont entre [40-60 ° C] et [200-300 bars] pour la température et la pression respectivement. Le temps d'extraction varie entre 30 min et 180 min.

2.5.5. Etude expérimentale par Plans d'expériences

Dans chaque étude, il y a un ou des grandeurs d'intérêt que nous appelons dans cette méthode « **réponse** ». La valeur de cette grandeur est liée à plusieurs variables ou facteurs dont la description de la relation entre eux nécessite un ensemble d'expériences. Selon la ou les méthodes classiques un grand nombre d'expériences doit avoir lieu pour pouvoir déduire l'équation mathématique qui relie ces grandeurs. Cela peut se faire en variant l'une des grandeurs et garder toutes les autres constantes, et donc le nombre d'expériences devient important et immaîtrisable dans le cas des problématiques où plusieurs facteurs entrent en jeu. De ce fait, les chercheurs ont démontré la nécessité d'une autre technique de recherche qui sert à optimiser le nombre des essais et à obtenir le maximum d'informations sur le phénomène en question. Ce développement est connu par la suite comme « Plans d'expériences ». Ils permettent de mieux comprendre l'effet des différents paramètres, et leurs interactions mutuelles selon des analyses statistiques. Cela permet de déterminer les facteurs clés dans la conception d'un nouveau produit ou l'optimisation du comportement d'un procédé à l'échelle du laboratoire ou à l'échelle industriel [162].

Chaque procédé peut être représenté par une relation mathématique qui relie le critère de performance désigné avec les différents facteurs de contrôle comme montré dans l'équation suivante :

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_n)$$

Prenant l'exemple d'un système où la réponse est liée à deux facteurs X_1 et X_2 , le domaine d'étude donc peut être déterminé en choisissant deux niveaux pour chaque facteur (niveau inférieur et niveau supérieur), comme présenté dans la figure suivante :

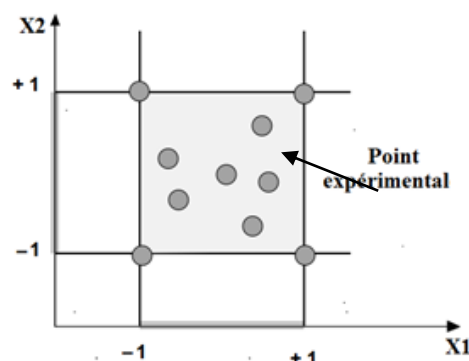


Figure 2.7 : Domaine d'étude (espace expérimental) [162].

Comme montré dans cette figure, à chaque point expérimental dans le domaine d'étude correspond une réponse, l'ensemble de ces réponses forment une surface noté « surface de réponse ».

Il existe plusieurs plans d'expériences tels que ; plans factoriels complets, plans factoriels fractionnaires, plan Box-Behnken, plans composites, plans de Doehlert, Plans hybrides, plans de mélanges...etc., lors de cette étude nous nous sommes intéressés au plan Box-Behnken. Ce dernier est considéré comme une combinaison des plans factoriels à deux niveaux 2^k avec des plans incomplets de blocs et il est appliqué surtout à des modèles de second degré. L'avantage associé à ce modèle est principalement économique lorsque les essais à optimiser sont coûteux, aussi il permet de tester non seulement l'effet linéaire des facteurs mais aussi non-linéaire (quadratique), qui se produit souvent lorsqu'un procédé est réalisé au voisinage de son optimum [163], [164].

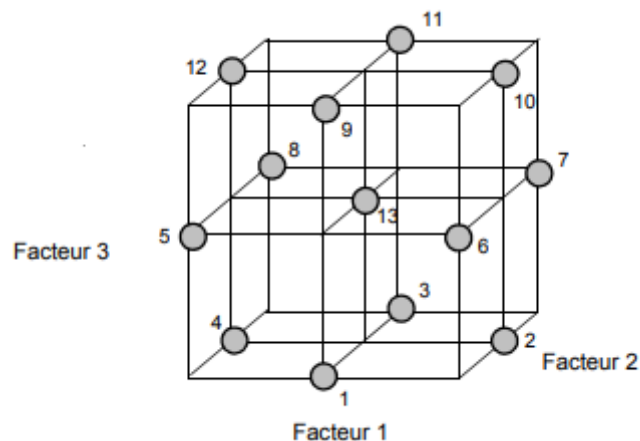


Figure 2.8 : Plan Box-Behnken pour trois facteurs.

Après l'obtention de la relation mathématique qui décrit le système à étudier, la phase suivante est purement statistique. Elle consiste à analyser les résultats obtenus afin de juger la validité du modèle élaboré. Cela est fait en quatre étapes :

- Etude de signification des effets.
- Analyse des résidus.
- Analyse de variance.
- Surfaces de réponses et optimisation [162], [164].

Les étapes d'analyses seront démontrées par la suite dans le chapitre résultats et discussions en faisant l'étude de l'effet des paramètres opératoires sur l'extraction par CO₂-SC des lipides contenus dans les fruits d'olives.

Tableau 2.2 : Matrice du plan Box-Behnken élaborée pour notre cas d'étude.

Expériences	Pression (Bar)	Température (°C)	Temps (min)
1	200	40	105
2	300	40	105
3	200	60	105
4	300	60	105
5	200	50	30
6	300	50	30
7	200	50	180
8	300	50	180
9	250	40	30
10	250	60	30
11	250	40	180
12	250	60	180
13	250	50	105
14	250	50	105
15	250	50	105

2.5.6. Analyse des extraits par CPG

L'analyse de la composition de l'huile d'olive en acides gras ou triglycérides peut se faire par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG). Avant d'introduire l'échantillon,

il est impératif de faire un prétraitement des échantillons par l'une des méthodes de méthylations.

Pour l'analyse des acides gras, le principe de la méthylation est de séparer les acides gras attachés aux molécules de glycérols et de les convertir en acides gras méthyles ester. Cette étape diminue la taille des molécules de l'huile et peuvent être facilement entraînées dans la colonne capillaire.

Une masse de 20 mg d'huile d'olive est mélangée avec 1 ml de TBME (Tert Butyl Methyl Ether). 100 µL de la solution résultante est ensuite mélangée avec 50 µl de TMSH (Trimethyl Sulphonium Hydroxide) sous agitation. Un volume de 1 µl est injecté dans l'appareil (modèle GC-3800 Varian), équipé d'un détecteur FID. Une colonne capillaire de type HP WAX et de dimensions 50 m, 0.25 mm et 0.25 µm de longueur, de diamètre interne et d'épaisseur du film respectivement est utilisée.

La température initiale du four est programmée à 185°C pendant 40min, ensuite une augmentation de 15°C/min est appliquée jusqu'au 250 °C durant 10 min. La température de l'injecteur est réglée à 250 °C permettant une vaporisation spontanée de l'échantillon injecté. Les proportions des acides gras méthyles esters FAME sont identifiées en faisant une comparaison de leurs temps de rétentions avec ceux des standards de références (Supelco, USA).

De même pour l'identification des triglycérides, une étape de prétraitement de l'échantillon avant injection est recommandée. 10 mg d'huile d'olive extraite par CO₂ supercritique est ajoutée à 100 µl d'une solution mère d'étalon interne (Heptadécane à 10 mg/ml cyclohexane), puis complétée à 10 ml par le cyclohexane. Après agitation, 160 µl de cette solution sont additionnés à 40 µl du réactif de silylation (BSTFA 1% TMCS). Ensuite, le mélange est chauffé jusqu'à 103 °C pendant 2 à 3min avant l'injection.

Le gaz vecteur utilisé dans l'équipement d'analyse par chromatographie en phase gazeuse (fourni par Perkin Elmer) est l'hélium. La colonne choisie est de type *Rtx-5* (Restek), d'une longueur de 15 m, d'un diamètre interne de 0.32 mm et d'épaisseur de film de 0.25 µm. Une quantité de 1 µl de l'échantillon est injecté, le four est chauffé à 55 °C pendant 0.5 min, puis un palier de 5 °C/min est programmé jusqu'à 80 °C, ensuite de 10 °C/min jusqu'à 360 °C. La température de four est maintenue à 360 °C pendant

16 min. Le détecteur à ionisation de flamme (FID) couplé à cet appareil est fixé à une température de 365 °C. Les composés sont identifiés par comparaison des temps de rétention avec des standards de référence et la quantification est réalisée par étalonnage interne.

2.5.7. Analyse morphologique par MEB

La microscopie électronique à balayage (MEB ou SEM Scanning Electron Microscopy) est une technique capable de produire des images à haute résolution de la surface d'un échantillon en utilisant le principe des interactions électrons-matière. Elle est basée sur le passage d'un faisceau d'électrons pour faire balayer la superficie de la matière en question qui réémet certaines particules comme réponse aux émissions. Les détecteurs qui reçoivent ces particules reconstruisent des images en trois dimensions et à plusieurs échelles de la surface étudiée.

Dans cette étude, le MEB est utilisé pour observer la surface des fruits d'olives utilisé dans l'extraction de l'huile par CO₂ supercritique. Les échantillons sont prétraités en déposant une petite quantité de l'olive broyées sur un film mince et conducteur, puis les spécimens sont mis sur un dépôt d'or sous vide. L'observation de la morphologie des échantillons avant et après extraction par CO₂-SC est réalisée par un MEB à émission de champ de type FESEM, FEI Helios Nanolab600i, USA.

2.6. Conclusion

Ce Dans ce chapitre, deux systèmes de natures différentes sont étudiés. Pour chacun d'eux, une méthode d'extraction adéquate est adoptée et détaillée. Le sérum est soumis à une extraction liquide-liquide des lipides en utilisant des solvants de faible toxicité. Cependant l'huile des fruits d'olives est extraite par un procédé vert, utilisant le CO₂ supercritique comme solvant. Il s'agit d'une extraction solide-liquide.

Les résultats obtenus seront détaillés dans le chapitre qui suit.

CHAPITRE III

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Introduction

Comme illustré dans le chapitre précédent, le procédé extractif des lipides a été appliqué sur deux matrices différentes : une d'origine animale, le sérum humain extrait par solvant ou un mélange de solvants de faible toxicité (Chloroforme/méthanol ou Hexane/Isopropanol), l'autre végétale, il s'agit des fruits d'olives locaux (de la région de Constantine) en utilisant le CO₂ à son état supercritique.

Cette partie présente les résultats obtenus dans le cas des deux systèmes à savoir le rendement de l'extraction, l'optimisation des paramètres opératoires de l'extraction par fluide supercritique. Le chapitre est achevé par une analyse qualitative et quantitative des extraits et enfin une tentative de valorisation des sous-produits résultants.

3.2. Extraction des lipides totaux dans le sérum humain

Le taux des lipides totaux, des triglycérides et du cholestérol contenus dans le sérum humain est déterminé par analyse biologique. L'extraction de ces lipides est réalisée par le biais de solvants à faible toxicité tels que le mélange Chloroforme/méthanol ou hexane/isopropanol. Les résultats trouvés sont regroupés dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1 : Quantité moyenne des lipides avant et après extraction.

Quantité des lipides (mg/dl)	Triglycérides	Cholestérol	HDL-Cholestérol	LDL-Cholestérol
Avant extraction	217,25	216,47	34,26	138,76
Après Extraction (phase organique)	--	18,76	29,28	--
Après Extraction (phase aqueuse)	8,35	2,25	--	60,65

De ce tableau, il ressort que les quantités des triglycérides (217,27mg/dl) et du cholestérol (216,47 mg/dl) avant extraction sont nettement supérieures aux normes (<200mg/dl et <160 mg/dl pour les triglycérides et le cholestérol respectivement). Les quantités trouvées de HDL-Cholestérol et de LDL-Cholestérol sont 34mg/dl et 139 mg/dl respectivement.

Après extraction et séparation de phases en utilisant les méthodes de folch et al [13] et celle de Baldoni et al [159], les résultats de plusieurs essais ont révélé une quantité assez importante d'HDL-cholestérol (29,28 mg/dl) comparativement à celle trouvée avant extraction. Pour les triglycérides et le cholestérol, nous notons des taux très faibles (<9%) dans les deux phases (organique et aqueuse) après extraction. Ce qui n'est pas le cas de LDL-cholestérol où la quantité extraite est de 60,65 mg/dl.

Ces résultats ne peuvent être expliqués. Sachant que les lipides sont solubles dans les solvants organiques, leur quantité dans la phase organique doit être plus importante que dans la phase aqueuse. En se basant sur la loi de conservation de la matière, qui n'est pas vérifié dans ce cas, malgré toutes les précautions prises lors des manipulations. Ce déséquilibre est dû d'après les biologistes à la présence de ces composants dans la phase intermédiaire (figure 3.1). Ce résultat n'est pas confirmé et nécessite des tests approfondis.

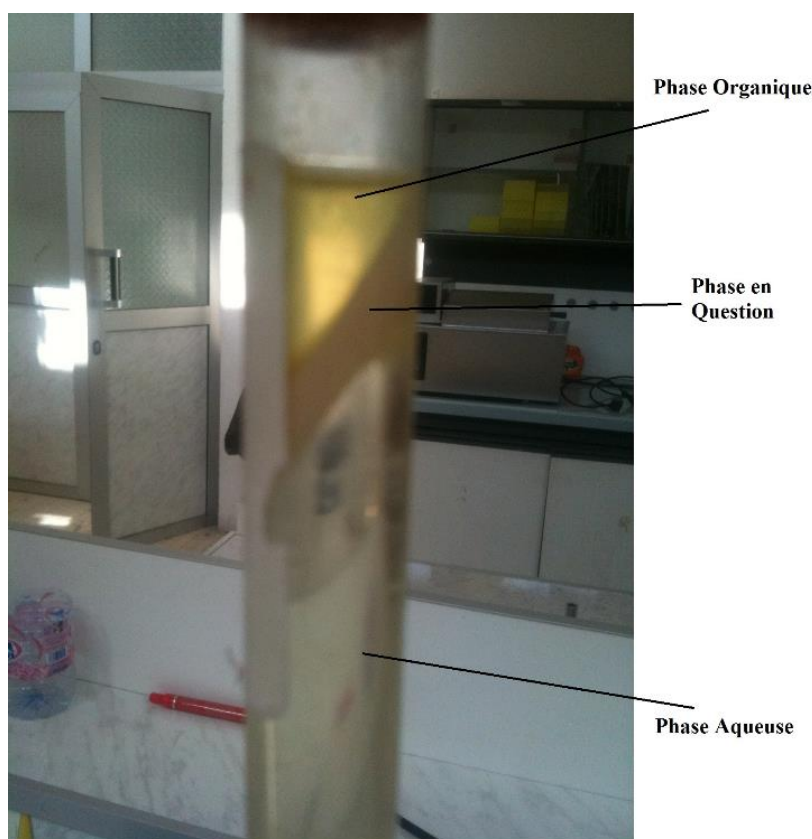


Figure 3.1 : Différentes phases après extraction.

Pour conclure, ces résultats aléatoires nous ont incités à changer de système et de sélectionner une matrice végétale locale en l'occurrence les olives.

3.3. Extraction de la matière grasse contenue dans les fruits d'olive par CO₂-SC

3.3.1. Essais préliminaires

Des essais préliminaires avec des olives Algériens, réalisés dans des conditions similaires à celles rapportées dans l'étude d'Al Otoom et al [160] ont conduit à un rendement négligeable. Contrairement à ceux trouvés par ces derniers où le rendement a atteint 12,37% à 240 bar, 60 °C et 150 min avec des olives non-broyées.

Pour y remédier, nous avons procédé à des variations des conditions opératoires entre 100 et 300 bars pour la pression, entre 50 et 60 °C pour la température, avec un temps d'extraction de 180 min. Le rendement n'a pas varié. Toutefois, nous avons noté un gonflement des fruits sans éclatement de la membrane externe, contrairement aux résultats de la référence précédente [160], où ils ont mentionné l'éclatement des membranes avec rétrécissement des fruits.

Ce phénomène peut être expliqué par la grande résistance de la couche supérieure (épicarpe ou cuticule) au transfert de matière par rapport à ceux de la Jordanie. Le CO₂ pénètre dans la matrice à travers les orifices de la membrane, puis transporte le soluté à l'extérieur. A la saturation, ce même film empêche le fluide enrichi en huile de s'échapper ce qui engendre un gonflement des fruits sans éclatement.

Pour y remédier, un traitement de surface est mené en cisillant la couche externe des fruits avant extraction aux conditions optimales. Un rendement nul est toujours noté (figure 3.2). Cela est dû probablement à la variété de l'olivier et des conditions géo-climatiques.

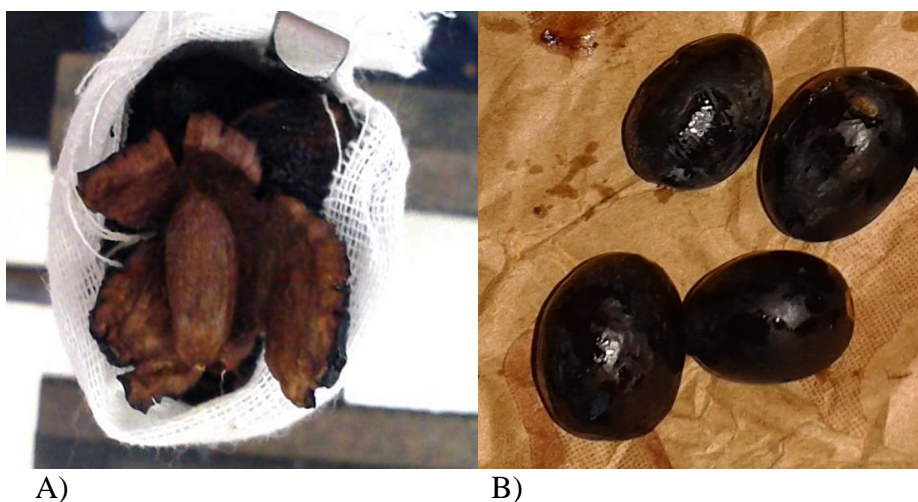


Figure 3.2 : Morphologie des fruits après extraction A) fruits Jordaniens [160], B) fruits Algériens.

Ces résultats nous ont conduits à utiliser des olives broyées en opérant dans des conditions de pression et de température à la limite de l'appareil.

Le rendement de l'extraction est calculé selon l'équation suivant :

$$R (\%) = \frac{m_{\text{huile}}}{m_{\text{olives s\`ecs}}} \times 100$$

3.3.2. Résultats de l'extraction à partir des olives broyées

Basée sur l'étude préliminaire, les paramètres pris sont regroupés dans le tableau 3.2, en spécifiant les niveaux de chacun d'entre eux selon la méthode des surfaces de réponse, précisément le modèle de Box-Behnken.

Tableau 3.2 : Niveaux des paramètres opératoires appliqués.

Variables	Pression en Bar	Température en °C	Temps en min
	A	B	C
Niveau inférieur (-1)	200	40	30
Niveau moyen (0)	250	50	105
Niveau supérieur (+1)	300	60	180

De ce fait, des expériences bien précises sont réalisées en prenant le rendement comme seule réponse. Les fruits sont séchés dans un étuve à 40 °C durant 24 heures afin d'éliminer l'humidité (le taux d'humidité moyen trouvé est de 28% approximativement), puis broyés. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 3.3.

Tableau 3.3 : Rendement de l'extraction par CO₂-SC de l'huile d'olive en fonction des conditions opératoires.

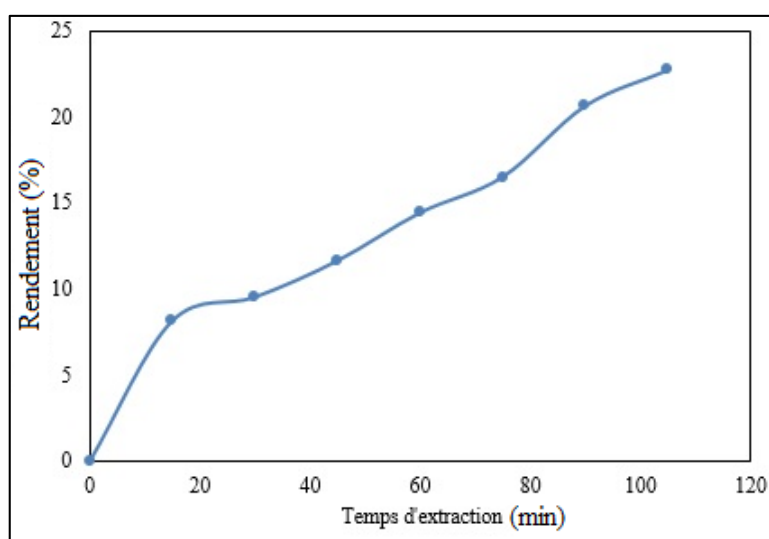
Expériences	Pression (Bar)	Température (°C)	Temps (min)	Rendement (%)
1	200	40	105	20.14
2	300	40	105	18.82
3	200	60	105	10.31
4	300	60	105	25.77
5	200	50	30	4.63
6	300	50	30	4.63
7	200	50	180	21.04
8	300	50	180	24.12
9	250	40	30	6.195
10	250	60	30	4.375

11	250	40	180	29.01
12	250	60	180	26.87
13	250	50	105	16.03
14	250	50	105	15.80
15	250	50	105	16.30
Par Soxhlet*	-	80	480	33

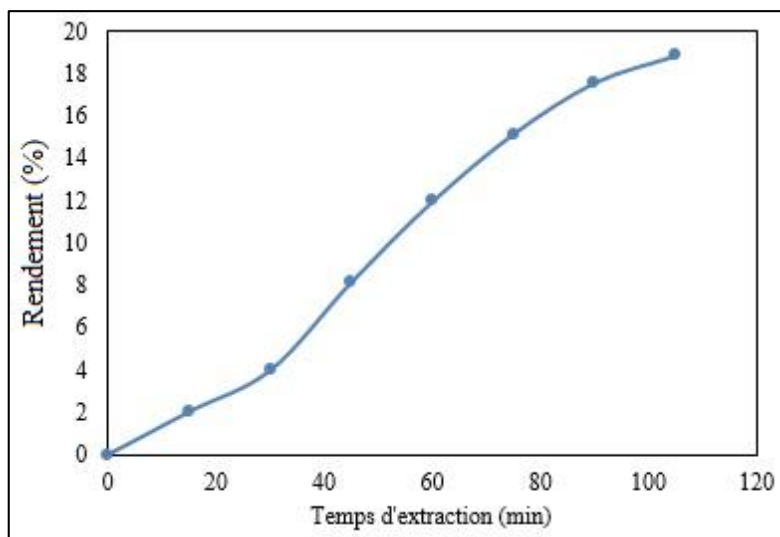
*Le résultat de l'extraction par soxhlet est rapporté par Bengana et al [165].

Un rendement maximal de 29 % est obtenu dans les conditions de 250 bars et 40 °C de pression et de température respectivement pendant trois heures (180 min) de contact. A des conditions opératoires similaires à celle utilisées par Al-Otoom et al [160] (240 bars, 60°C et 150 min), les taux d'extraction sont de 21,89% avec des fruits broyés et 12,3% avec des fruits non broyés [160]. Cette augmentation est due au broyage des fruits qui a rompu la résistance au transfert de matière et libéré le soluté emmagasiné dans les cellules végétales, en plus de la surface d'échange qui est devenue plus importante.

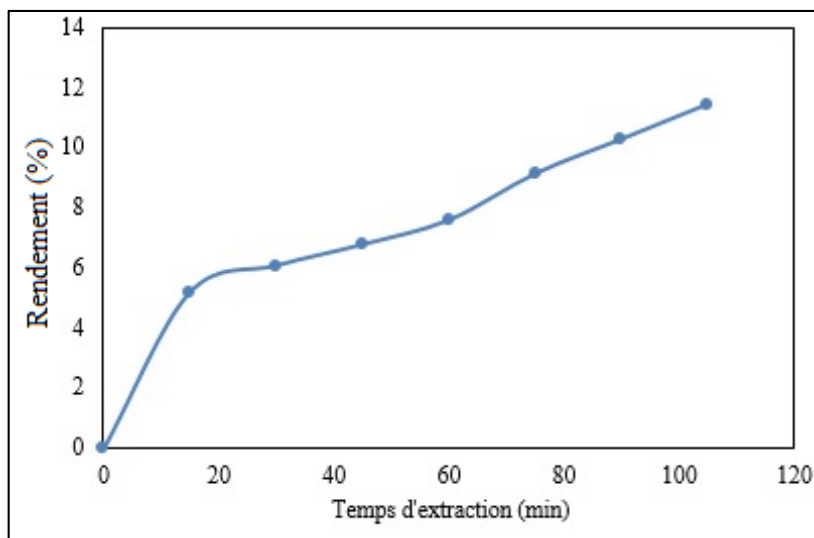
L'étude de la cinétique d'extraction consiste à suivre l'évolution du rendement de l'huile d'olive en fonction du temps à différentes conditions opératoires. Les résultats sont reportés dans les figures 3.3 ci-dessous :



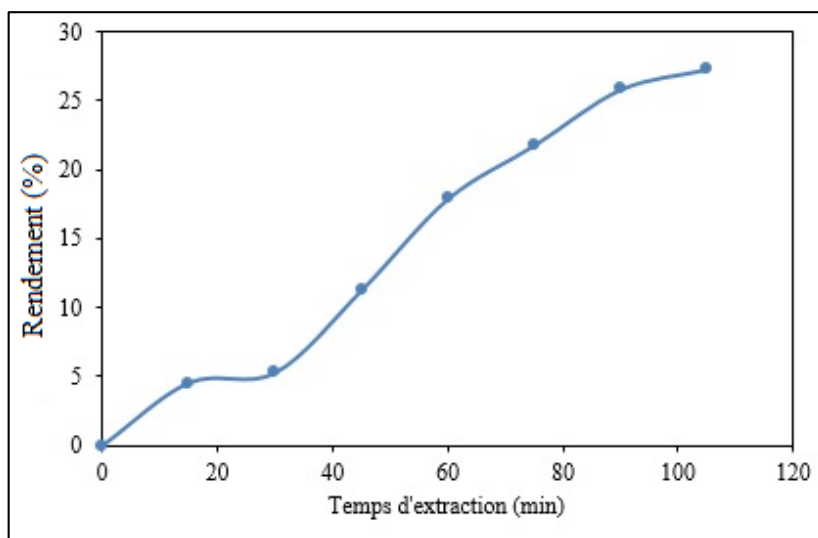
a) 200 Bar, 40 °C, 105 min.



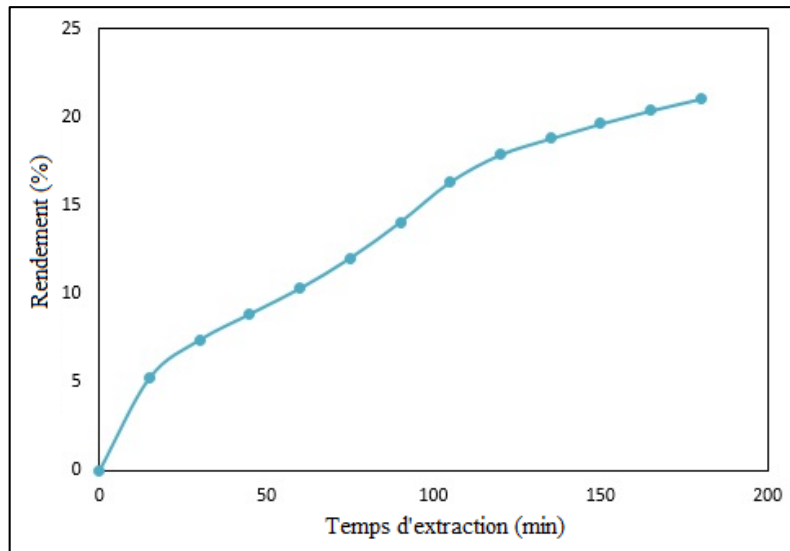
b) 300 Bar, 40 °C, 105 min.



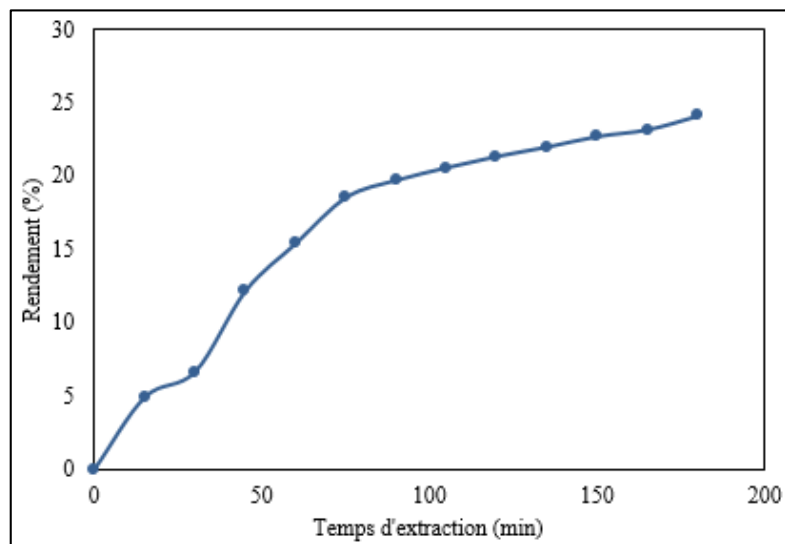
c) 200 Bar, 60 °C, 105 min.



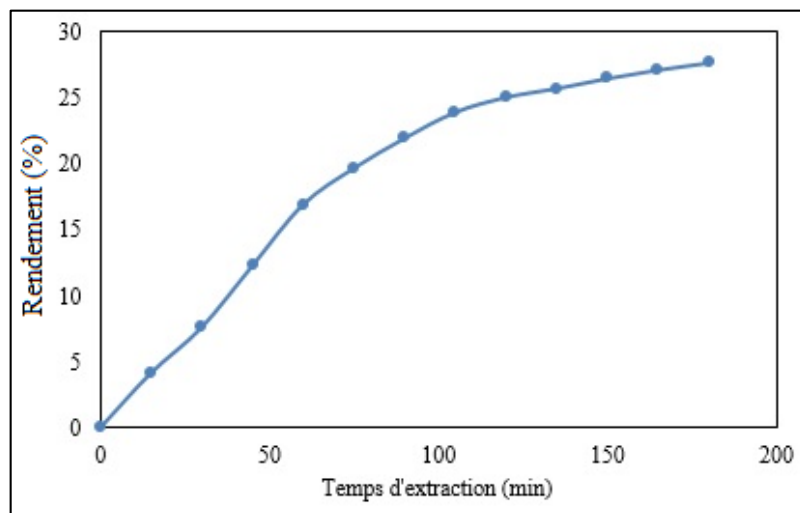
d) 300 Bar, 60 °C, 105 min.



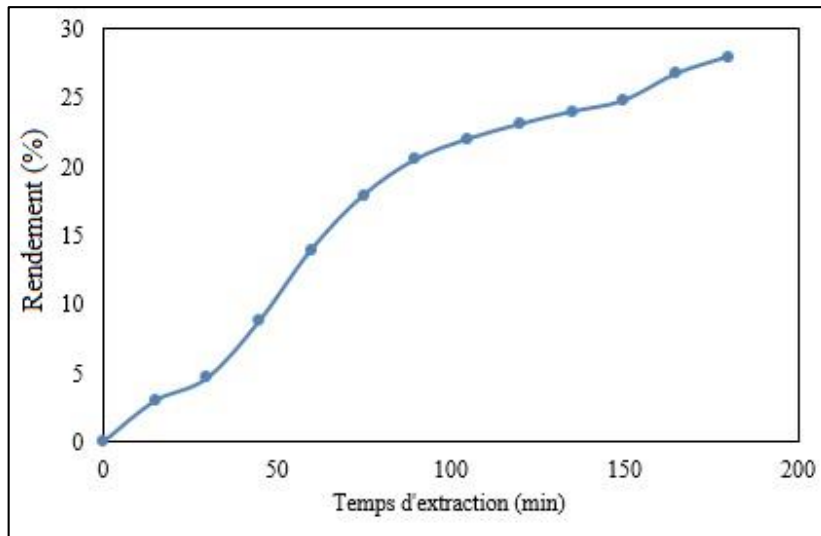
e) 200 Bar, 50 °C, 180 min.



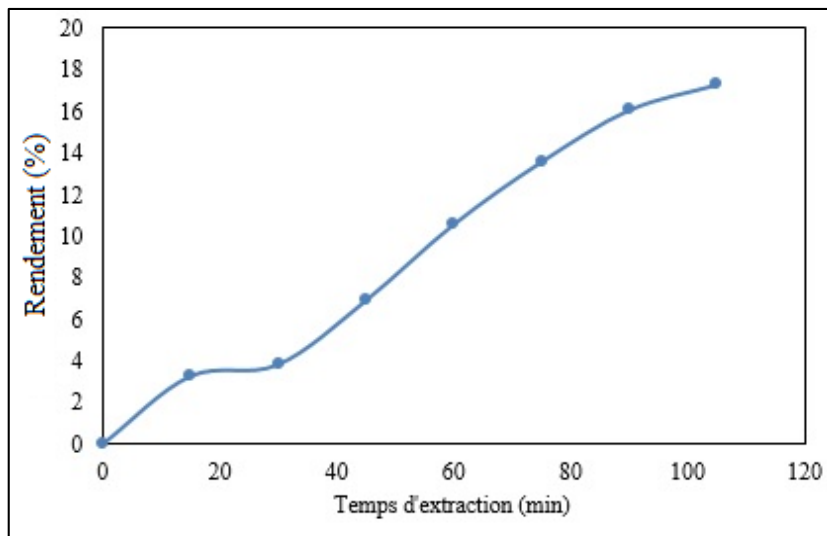
f) 300 Bar, 50 °C, 180 min.



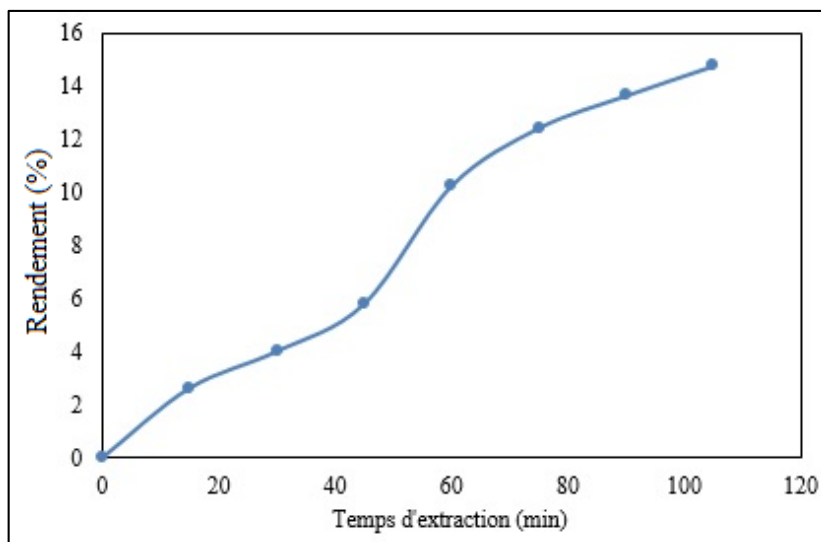
g) 250 Bar, 40 °C, 180 min.



h) 250 Bar, 60 °C, 180 min.



i) 250 Bar, 50 °C, 105 min.



j) 250 Bar, 50 °C, 105 min.

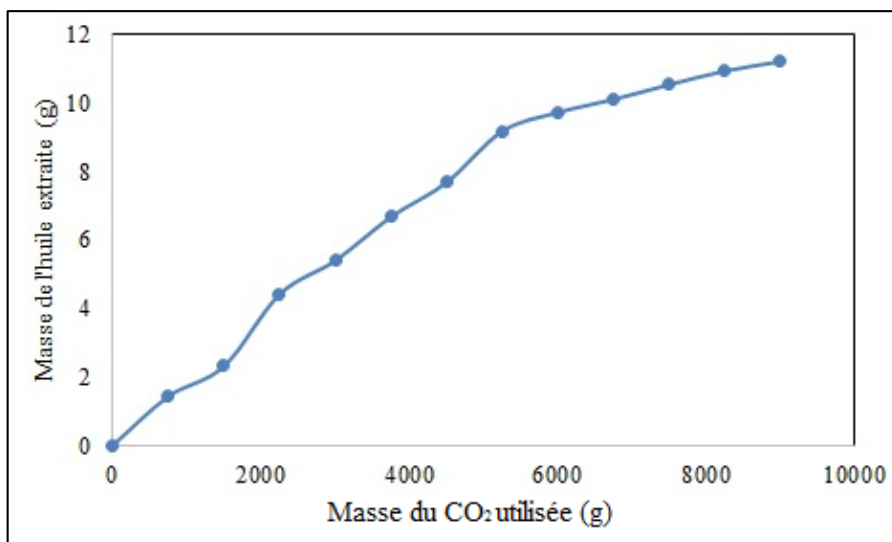
Figures 3.3 : Cinétique d'extraction de l'huile d'olive par CO₂-SC à différents conditions de pression, de température et de temps de contact.

Ces figures montrent dans la majorité des cas, qu'après cent minutes (100 min) de temps de contact du CO₂ supercritique avec la matrice solide, la quantité maximale de l'huile d'olive est récupérée. Ensuite l'accumulation devient moins importante jusqu'à 180 min, le rendement tend à se stabiliser. La quantité d'huile extraite devient faible en fonction des charges dépensées. Par conséquent, le critère d'arrêt des manipulations est fixé à trois heures.

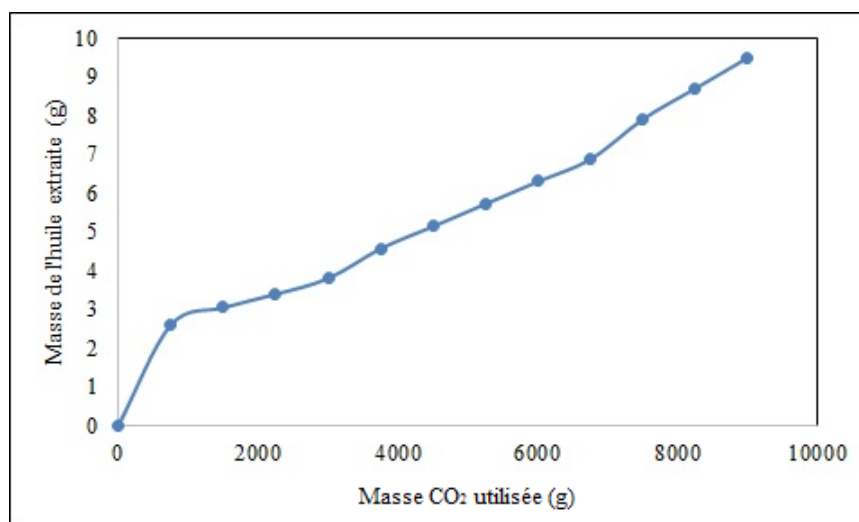
Ce résultat peut être expliqué par le fait que ; dans la première période l'huile végétale se trouve à la surface de la matrice solide et donc facilement accessible par le CO₂ supercritique. Durant cette étape, le phénomène d'extraction est contrôlé par la solubilité du soluté considérée comme résistance externe au transfert. Contrairement à la deuxième période où le rendement en huile diminue et tend vers la stabilisation. Le soluté superficiel dans ce cas est épuisé, le processus d'extraction à l'intérieur du solide est achevé.

L'opération d'extraction est limitée par le fait que le transfert de matière par diffusion est considéré comme seul phénomène d'extraction. Ensuite, la quantité de soluté extraite devient trop faible en fonction du temps, ce qui rend le processus d'un point de vue technico-économique (épuisement de l'appareil, gaspillage de CO₂, du temps et de l'énergie, ...etc.) non rentable.

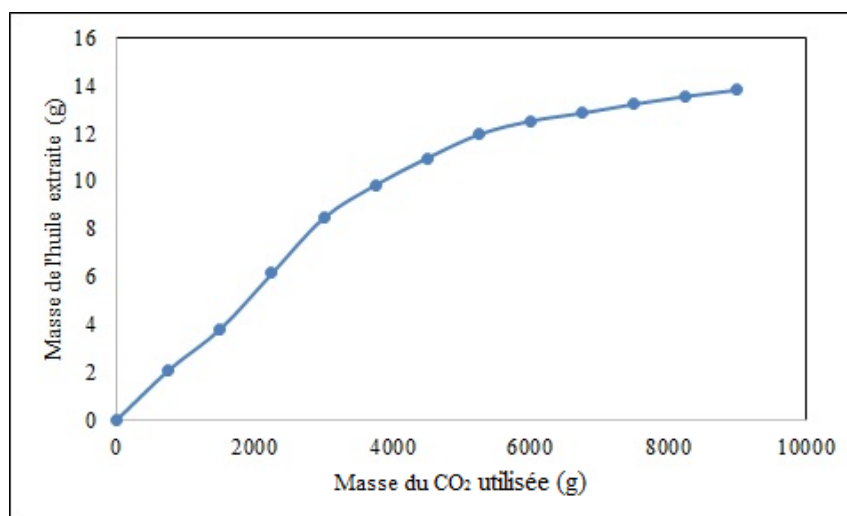
La masse cumulée de l'huile d'olive est présentée en fonction de la masse de CO₂ utilisée comme illustré dans les figures 3.4 à différentes conditions opératoires durant trois heures.



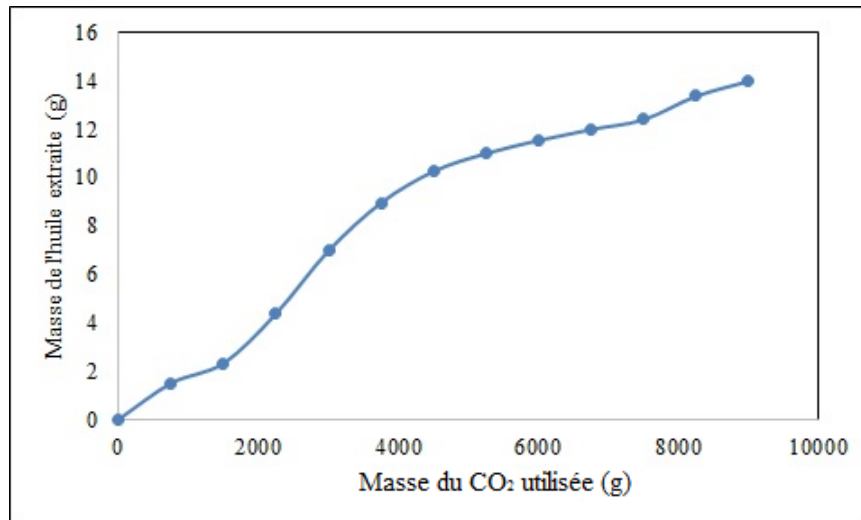
a) 200 Bar, 323 °K.



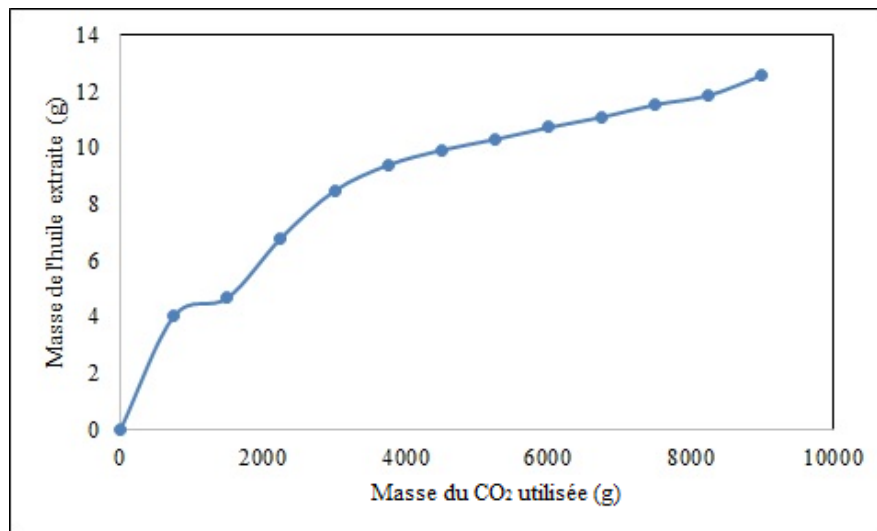
b) 200 Bar, 333 °K.



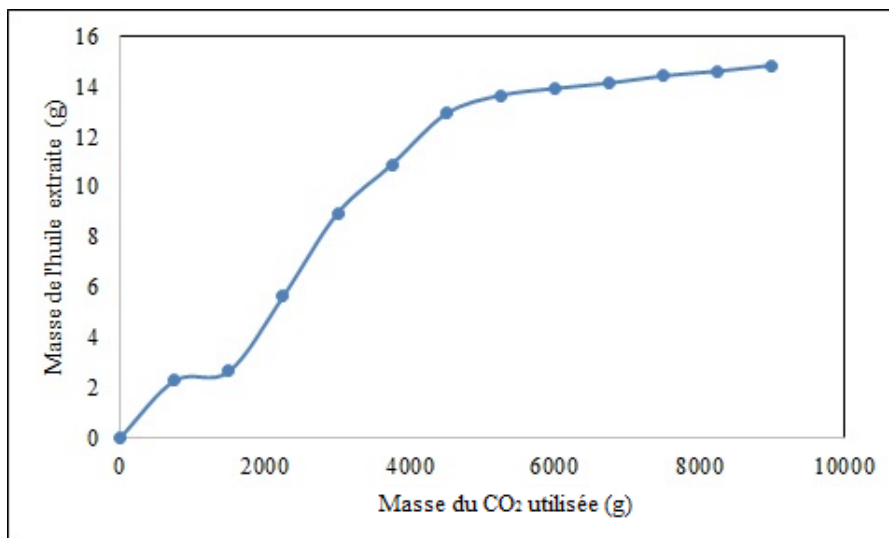
c) 250 Bar, 313 °K.



d) 250 Bar, 333 °K.



e) 300 Bar, 323 °K.



f) 300 Bar, 333 °K.

Figures 3.4 : Masse d'huile cumulée en fonction de la masse de CO₂ utilisée à différents pression et température durant trois heures.

D'après les figures 3.4, la variation de la masse d'huile cumulée est linéaire et rapide uniquement au début de l'extraction en fonction de la quantité de CO₂ consommée. Elle devient par la suite lente jusqu'à atteindre un pallier traduisant la fin du processus.

Tableau 3.4 : Solubilité de l'huile d'olive dans le CO₂ supercritique.

P (bar)	200	200	250	250	300	300
T (°K)	323	333	313	333	323	333
Solubilité (mg huile/g CO ₂)	1.91333	2	2.77333	3.02667	3.46667	5.36667

D'après ce tableau, il est clair que la solubilité de l'huile d'olive dans le CO₂ supercritique devient plus importante à pression élevée. Elle atteint la valeur 5,37 mg d'huile/g CO₂ approximativement à 300 bars.

3.3.3. Analyse statistique du modèle

Dans le but d'étudier les effets des différents paramètres et leurs interactions sur le rendement en matière grasse extraite par CO₂ supercritique à partir des fruits d'olive, la méthodologie des surfaces de réponses déjà décrite dans le chapitre précédent est appliquée en utilisant précisément le modèle de Box-Behnken pour déterminer les conditions optimales.

À l'aide du logiciel Minitab 16, l'étude statistique a permis l'analyse des données et l'interprétation des résultats. La corrélation obtenue par la méthode des surfaces de réponse (Box-Behnken) est un polynôme du second degré :

$$y = a_0 + a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_3 X_3 + a_{12} X_1 X_2 + a_{13} X_1 X_3 + a_{23} X_2 X_3 + a_{123} X_1 X_2 X_3 + a_{11} X_1^2 + a_{22} X_2^2 + a_{33} X_3^2 \quad (3.1)$$

Où :

- X₁, X₂, X₃ sont la pression, la température et le temps d'extraction respectivement.

- y est la réponse à estimer.
- a_0 est la constante du modèle qui représente la valeur théorique de la réponse au centre du domaine expérimental, sachant qu'elle est indépendante des facteurs individuels ou d'interactions. C'est la moyenne de toutes les réponses expérimentales du plan.
- a_1, a_2, a_3 sont les coefficients de régression représentatifs des effets des paramètres opératoires X_1, X_2, X_3 respectivement.
- $a_{12}, a_{13}, a_{23}, a_{123}$ sont les effets des interactions mutuelles des paramètres $X_1 X_2, X_1 X_3, X_2 X_3$ et X_{123} respectivement.
- a_{11}, a_{22}, a_{33} sont les effets des variables du second degré X_1^2, X_2^2, X_3^2 respectivement.

Ces coefficients estimés par Minitab 16 sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 3.5 : Résultats de la régression des données expérimentales du modèle Box-Behnken.

Coefficient	Valeur estimée	T-value	P-value	Degré de liberté	T-table*
a_0	16.03	12.054	0	5	2.57
a_1	2.1525	2.643	0.046		
a_2	-0.855	-1.050	0.342		
a_3	10.1525	12.467	0		
a_{11}	-0.1375	-0.115	0.913		
a_{22}	2.8675	2.392	0.062		
a_{33}	-2.2875	-1.908	0.115		
a_{12}	4.1950	3.642	0.015		
a_{13}	0.77	0.669	0.533		
a_{23}	-0.08	-0.069	0.947		

*une valeur déduite du tableau de test de student pour une erreur inférieure ou égale à 5%.

Comme montré dans le tableau 3.6, les coefficients estimés ont des valeurs différentes. Lorsque la valeur est positive, on dit que le paramètre influe positivement sur la réponse en question, ou inversement. Dans notre cas, on peut dire que l'augmentation de la pression et/ou du temps de contact fait augmenter le rendement de l'huile extraite, contrairement à la température qui semble avoir un effet négatif sur le rendement.

Le T-value correspond à la valeur du test de student qui vient pour illustrer non seulement la signification des coefficients mais aussi ceux qui sont plus significants. Celui-ci est déduit lorsque la valeur du coefficient est trop élevée par rapport à la valeur du T-student tabulée (voir annexe). De même pour la valeur de probabilité P-value, si la valeur est supérieure à 0.05, l'effet du coefficient est insignifiant sur la réponse prédite, et vis- versa [166], [167].

Du tableau précédent, le temps est le facteur le plus significatif traduit par une valeur de T-student égale à 12.47, valeur très supérieure à celle déduite du T-student tabulée (2,57). Ce résultat est validé par l'étude de la cinétique où le rendement en matière grasse augmente progressivement avec le temps jusqu'à l'équilibre. La pression présente un effet significatif contrairement à la température dont la valeur du T-student est inférieure à la valeur tabulée (-1,050).

Pour les effets mutuels, l'interaction « pression-température » d'une valeur approximative de 3,7 supérieure à la valeur du T-tabulé, confirme l'effet significatif sur le rendement, contrairement aux deux autres interactions « pression-temps » et « température-temps ». Ce résultat est validé aussi par la valeur de P-value.

Par conséquent, l'estimation des coefficients de régression nous a conduit à l'équation du modèle suivante :

$$Y = 16.03 + 2.1525 X_1 - 0.855 X_2 + 10.1525 X_3 + 4.195 X_1X_2 + 0.77 X_1X_3 - 0.08 X_2X_3 - 0.1375 X_1^2 + 2.8675 X_2^2 - 2.2875 X_3^2 \quad (3.2)$$

Cette corrélation mathématique est donc le modèle qui décrit la relation entre la réponse et les paramètres ayant une influence qu'elle soit positive ou négative sur le processus d'extraction. Le tableau suivant regroupe les résultats expérimentaux et numériques obtenus par le modèle aux différents niveaux des facteurs utilisés.

Tableaux 3.6 : Matrice de conception Box-Behnken en unités codées couplée à la réponse (expérimentale et calculée).

Essai	Facteur			Réponse (%)	
	X ₁	X ₂	X ₃	y _{exp}	y _{cal}
1	-1	-1	0	20.14	21.6575
2	+1	-1	0	18.82	17.5725
3	-1	+1	0	10.31	11.5575
4	+1	+1	0	25.77	24.2525
5	-1	0	-1	4.63	2.07
6	+1	0	-1	4.63	4.835
7	-1	0	+1	21.04	20.835
8	+1	0	+1	24.12	26.68
9	0	-1	-1	6.195	7.2325
10	0	+1	-1	4.375	5.6825
11	0	-1	+1	29.01	27.6975
12	0	+1	+1	26.87	25.8275
13	0	0	0	16.03	16.03
14	0	0	0	15.80	16.03
15	0	0	0	16.30	16.03

* X₁, X₂, X₃ représentent la pression, la température et le temps respectivement.

L'analyse de la matrice tabulée au-dessus montre que la réponse varie entre 4.37% et 29.01%.

Pour évaluer la fiabilité du polynôme obtenu (équation 3.2), le facteur de corrélation R² est déterminé à partir du graphe ci-dessous (figure 3.5). L'analyse de variance

(ANOVA) présentée dans le tableau 3.7 vient pour juger la qualité de ce modèle en se basant sur le test de Fisher comme présenté dans le chapitre précédent.

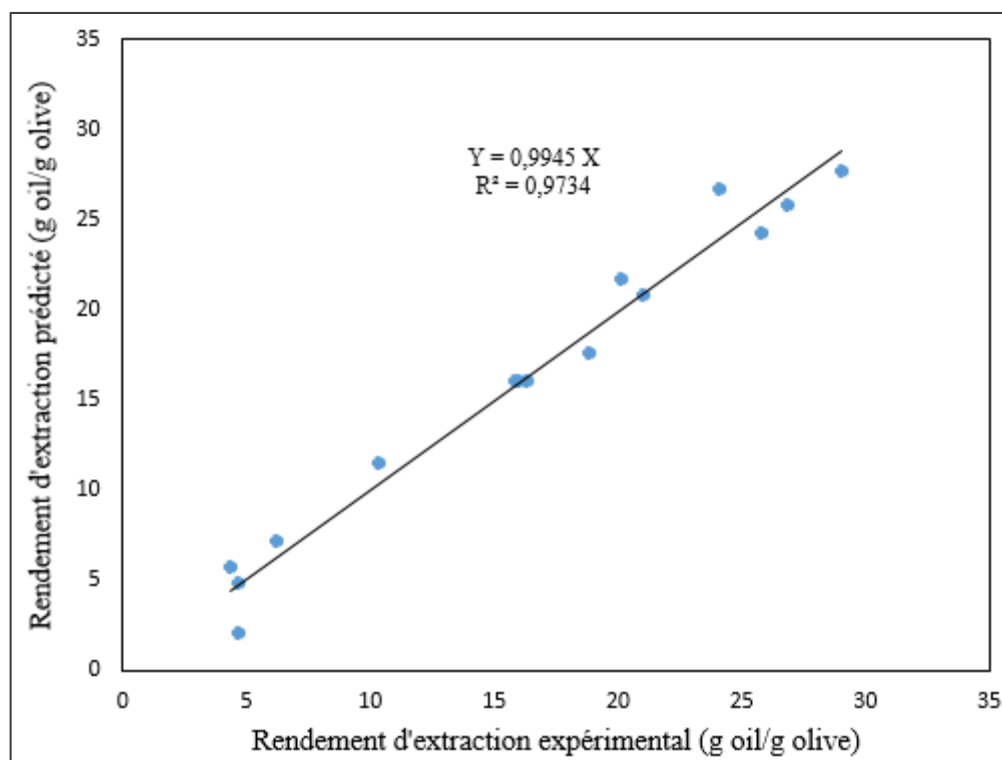


Figure 3.5 : Comparaison entre le rendement d'extraction mesuré expérimentalement et prédit par le modèle.

Tableau 3.7 : Analyse de Variance (ANOVA).

Source of variations	Degré de liberté	Somme des carrés	Carré moyen ajusté	Valeur F
Régression	9	994.12	110.457	20.72
Résiduels	5	26.65	5.331	
Total	14	1020.77		

$R^2 = 97.4\%$. $R^2\text{-Adj} = 0.927$. Valeur de $F = 20.72 \gg F_{0.05}(9; 5)$ tabulée = 4.77.

De la figure 3.5 et du tableau 3.7, tous les points sont très proches de la première bissectrice d'où la valeur de R^2 de 0.974 (97.4%). Ceci indique qu'il y a un bon accord entre les valeurs expérimentales et prédites, validant le modèle quadratique donné par l'équation (3.2) pour la prédiction du rendement d'extraction de l'huile d'olive par CO_2 supercritique. Ce résultat est confirmé par la valeur de R^2 ajusté ($\text{Adj-}R^2$) qui est de 0.927 (92.7%) [87], [168].

La valeur F du rapport de variation de Fisher indique dans quelle mesure les facteurs décrivent la variation des données autour de leur moyenne. Elle représente le rapport entre le carré moyen du modèle et l'erreur résiduelle. Si le modèle prédit bien les résultats expérimentaux, la valeur F doit être supérieure à la valeur tabulée de la distribution F pour un certain nombre de degrés de liberté dans le modèle à un niveau de signification α ($\alpha = 5\%$). Dans le cas présent, la valeur F est trouvée égale à 20.72 ce qui est beaucoup plus élevé que la valeur F tabulée ($F_{\text{tabulée}} = 4.77$). Ce résultat confirme une fois de plus que le modèle quadratique est adéquat à un degré très élevé et montre que le traitement des combinaisons est très significatif [169]. Toutes ces interprétations conduisent aux conditions optimales pour un rendement maximal.

Une optimisation à l'aide du logiciel *Minitab* a permis de déterminer que le rendement maximal est de 33.35% en poids aux conditions de 300 bars, 60 °C et 180 minutes, de pression, de température et de temps respectivement. Ce résultat est vérifié expérimentalement ou le rendement obtenu est de 34.09%. Cette valeur maximale se compare raisonnablement avec les rendements habituellement obtenus pour une extraction d'huile d'olives de la même variété Chemlal par des méthodes traditionnelles telles que le pressage à froid [151] ou par Soxhlet [165]. Dans cette dernière, Bengana et al [165] ont considéré l'extraction de l'huile d'olives de la variété Chemlal cultivée en Algérie par Soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant. Ils ont obtenu un rendement entre 33 et 42 % pendant la période de la récolte.

Pour confirmer la valeur optimale du rendement, il est recommandé d'effectuer d'autres expériences à des niveaux plus élevés. Malheureusement, la machine utilisée ne permet pas techniquement à les atteindre.

3.3.4. Effets des paramètres

L'influence des différents paramètres opératoires sur le processus d'extraction des lipides par voie supercritique, ainsi que leurs interactions basées sur les résultats de régressions présentés dans la partie précédente (tableau 3.6), sont illustrées dans l'histogramme de Pareto suivant :

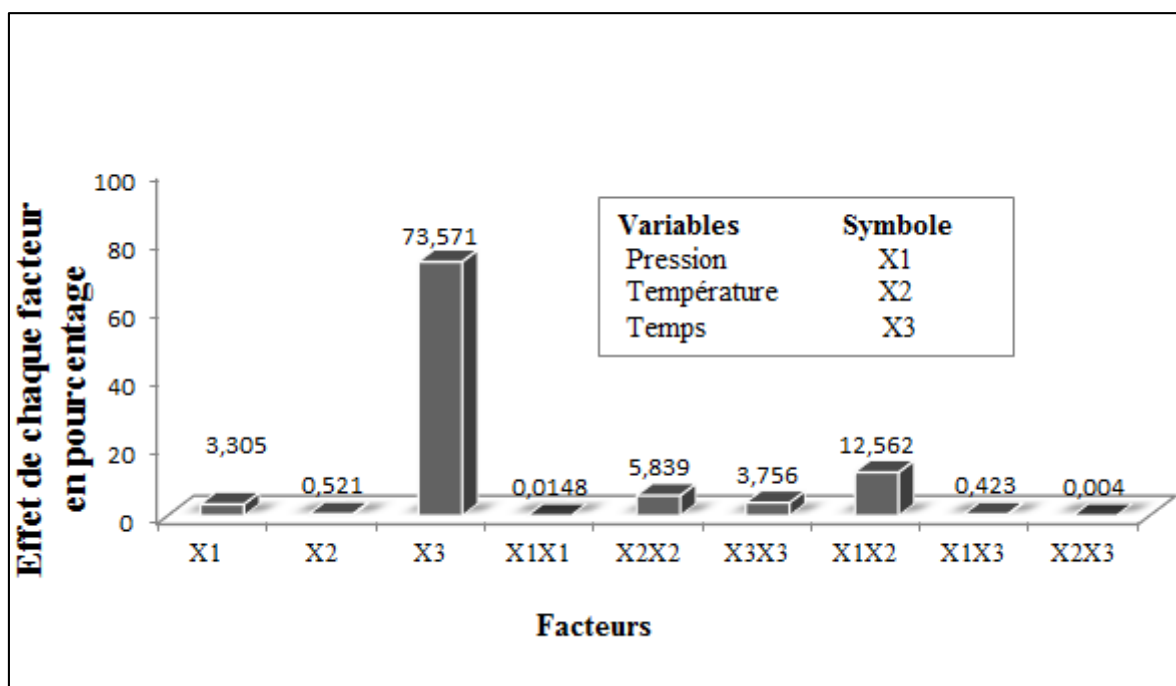


Figure 3.6 : Présentation de Pareto.

D'après cette figure, il est clair que l'effet individuel du temps d'extraction X3 est prédominant avec un pourcentage supérieur à 73% sur le rendement d'extraction d'huile d'olives par CO₂ supercritique, comparativement aux effets de la pression X1(4%) et de la température X2 (1%). Cependant, l'effet de l'interaction de ces deux paramètres est notable (13%) par rapport aux autres interactions (moins de 5%).

Ces résultats sont confirmés par l'analyse ANOVA qui a montré dans quelle mesure le modèle quadratique résultant et ses paramètres individuels (pression, température et temps d'extraction) contribuent à la compréhension du processus pour évaluer la qualité à travers le rendement d'extraction de l'huile d'olive.

a) Effets individuels
- Effet de la pression

L'effet de la pression sur le rendement de l'extraction de la matière grasse par CO₂ supercritique est étudié à une température de 50 °C durant une période de 105 min (figure 3.7).

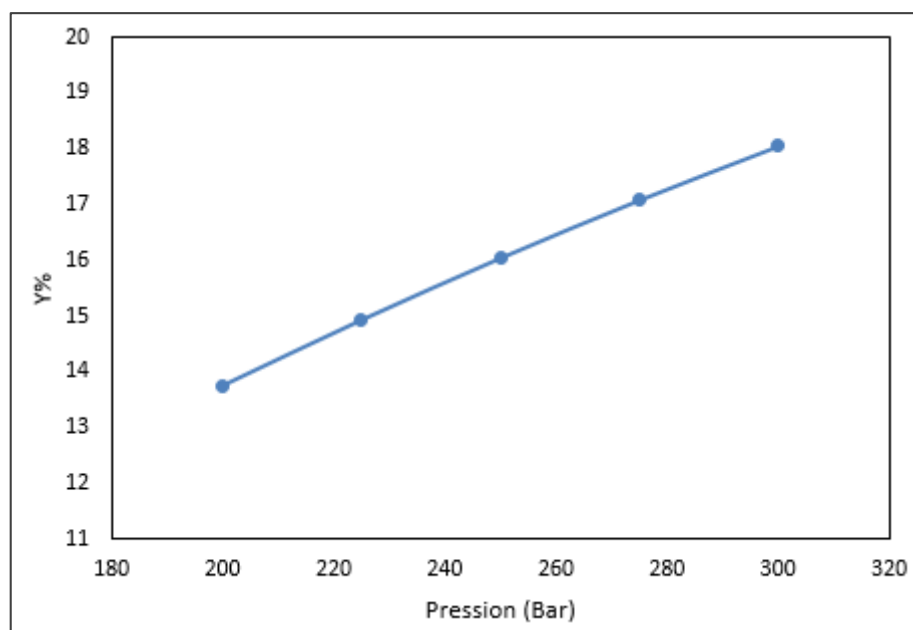


Figure 3.7 : Effet de la pression

La figure 3.7 montre que l'augmentation de la pression conduit à une augmentation de la quantité d'huile récupérée. Les rendements d'extraction varient entre 14% et 18% en changeant la pression de 200 à 300 bars.

À basse pression, la quantité de l'huile d'olive extraite est faible en raison de la faible solubilité de l'huile. Ceci est attribué à la densité relativement faible du CO₂. En augmentant la pression d'extraction, la densité du CO₂-SC augmente, ce qui rend le pouvoir solvant plus important d'où une augmentation de la solubilité de l'huile conduisant à un rendement élevé de l'huile d'olive. Cela peut s'expliquer par le fait que l'augmentation de la densité favorise la formation de cages de solvation par le CO₂ autour des molécules du soluté, ce qui améliore la solubilité dans l'huile. Des résultats similaires sont rapportés dans des travaux antérieurs [85], [120], [141], [160], [170].

- Effet du temps d'extraction

Le tracé de l'accumulation du rendement d'extraction en fonction du temps (fig 3.8) est présenté à des conditions de pression et de température de 250 bars et 50 °C respectivement.

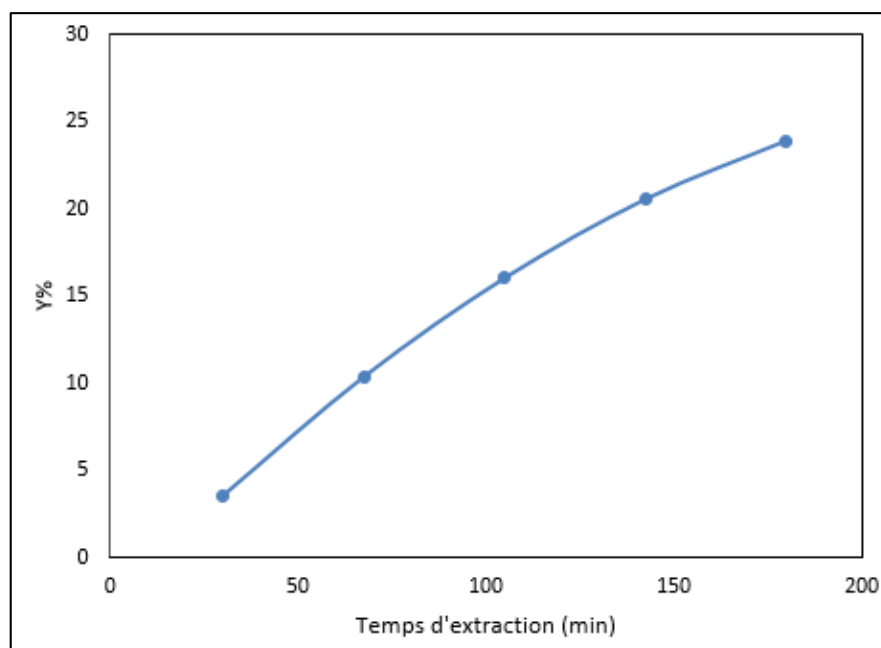


Figure 3.8 : Effet du temps d'extraction

Une augmentation du taux d'huile récupéré en fonction du temps est notée. Un temps d'extraction de 60 min a permis la récupération de 9% de l'huile d'olive. Alors qu'après 120 et 180 min, les rendements sont de 18% et 24% respectivement. Cela confirme le grand effet du temps d'extraction sur le rendement [81], [85], [171].

- Effet de la température

L'effet de la température est étudié au point de la pression centrale (250 bars) pendant 105 min, comme le montre la figure 3.9.

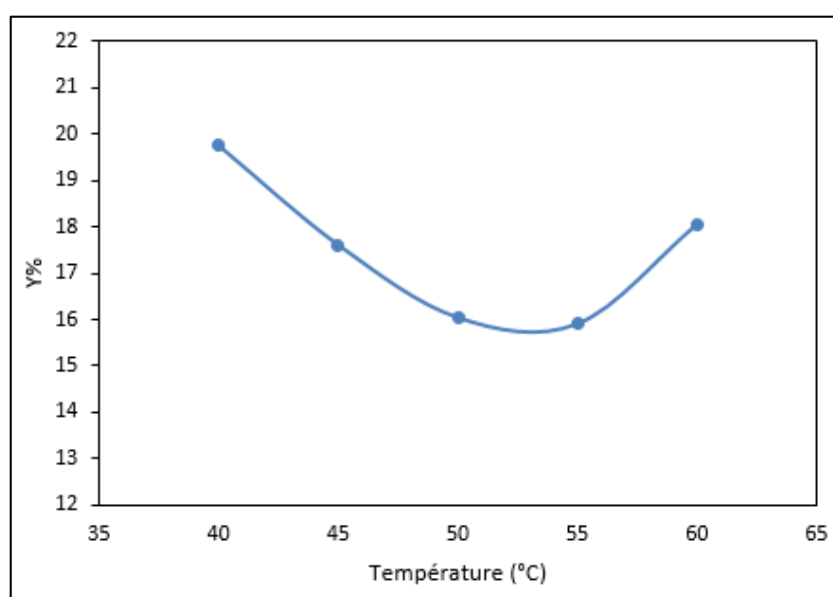
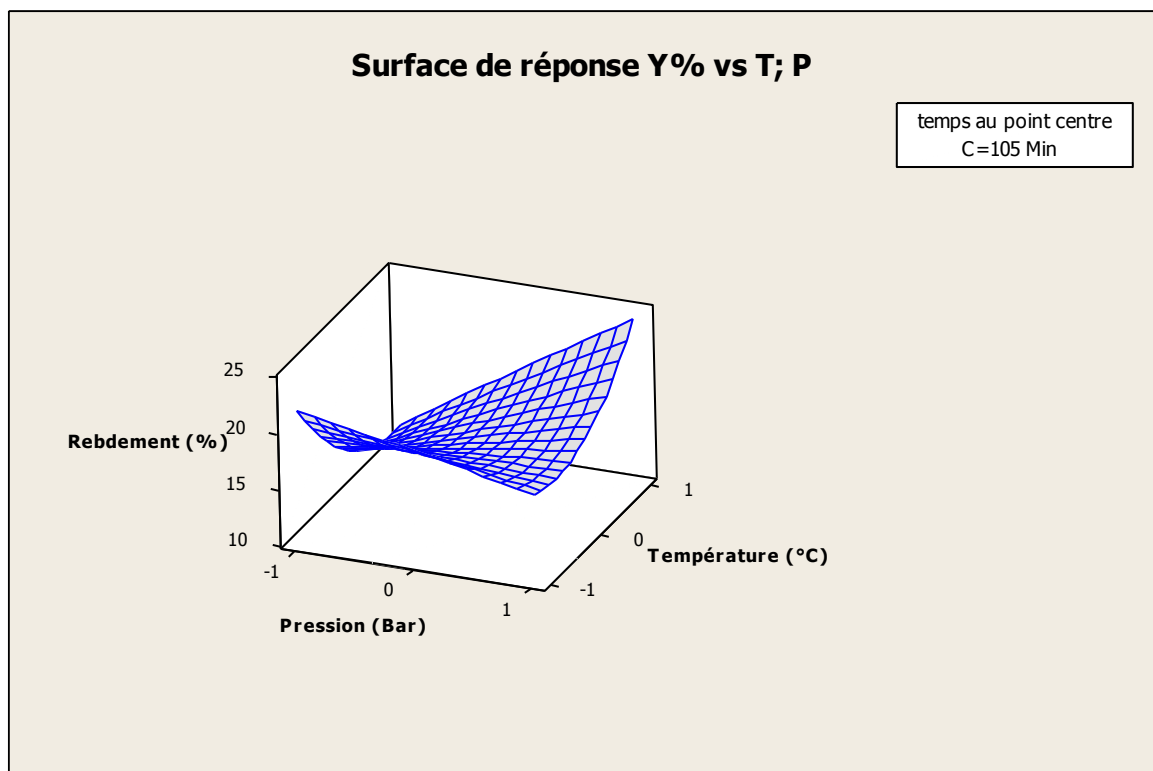


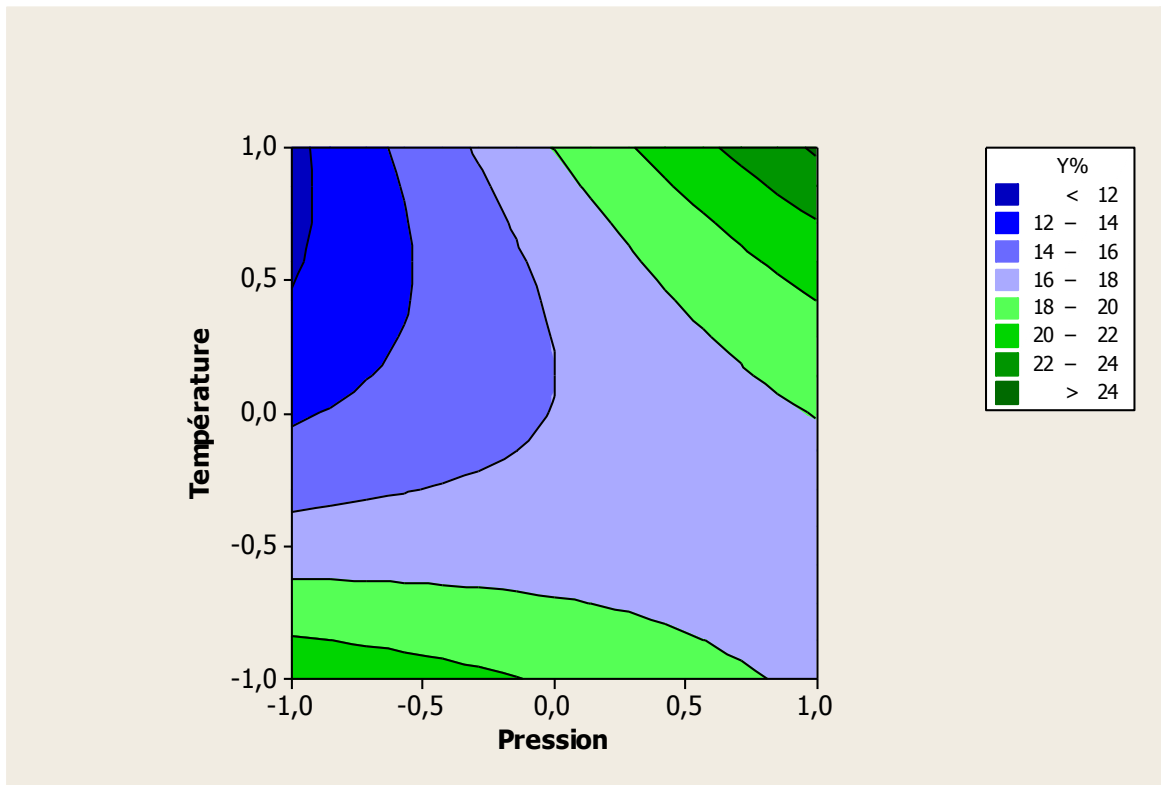
Figure 3.9 : Effet de la température.

A une température de 40 ° C, le rendement cumulé des lipides est d'environ 20%. En augmentant la température jusqu'à 54 ° C, le rendement en huile diminue jusqu'à atteindre 15.5%. Au-delà de cette température, le rendement augmente nettement avec la température jusqu'à une valeur de 18% approximativement.

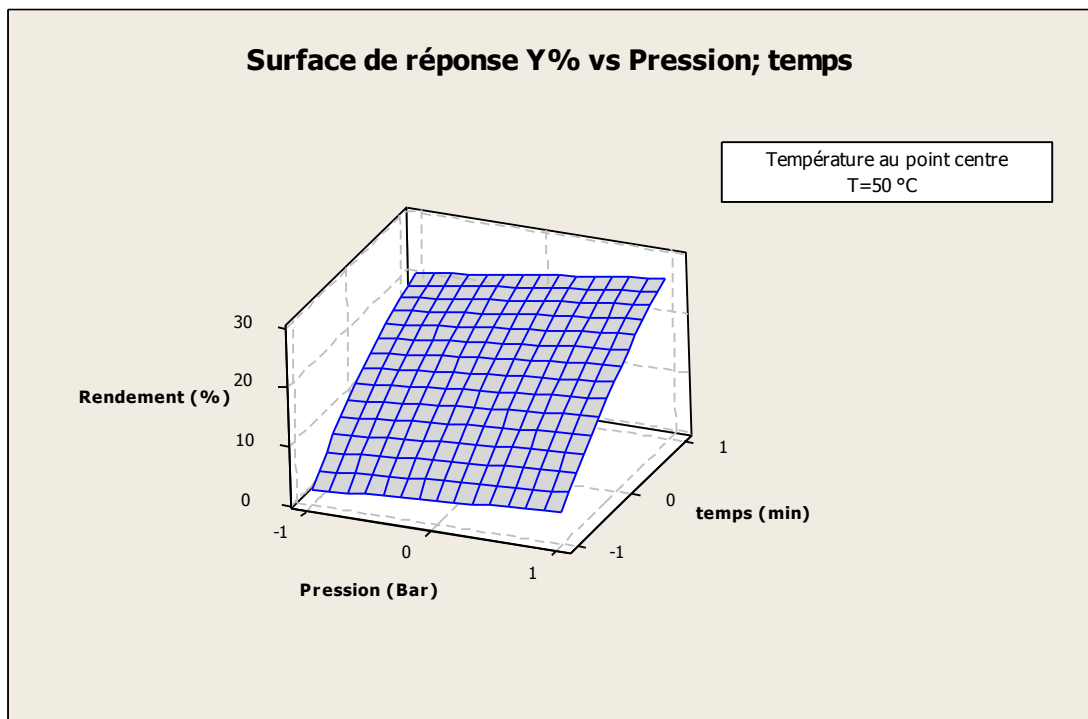
b) Effets des interactions

La méthodologie des surfaces de réponses à travers des tracés de contour permet d'étudier la variation du rendement d'extraction d'huile en fonction de deux facteurs, en fixant le troisième à son niveau central comme montré dans les figures suivantes :





Figures 3.10 : Surface de réponse et Contour du rendement en fonction de température-pression durant 105 min.



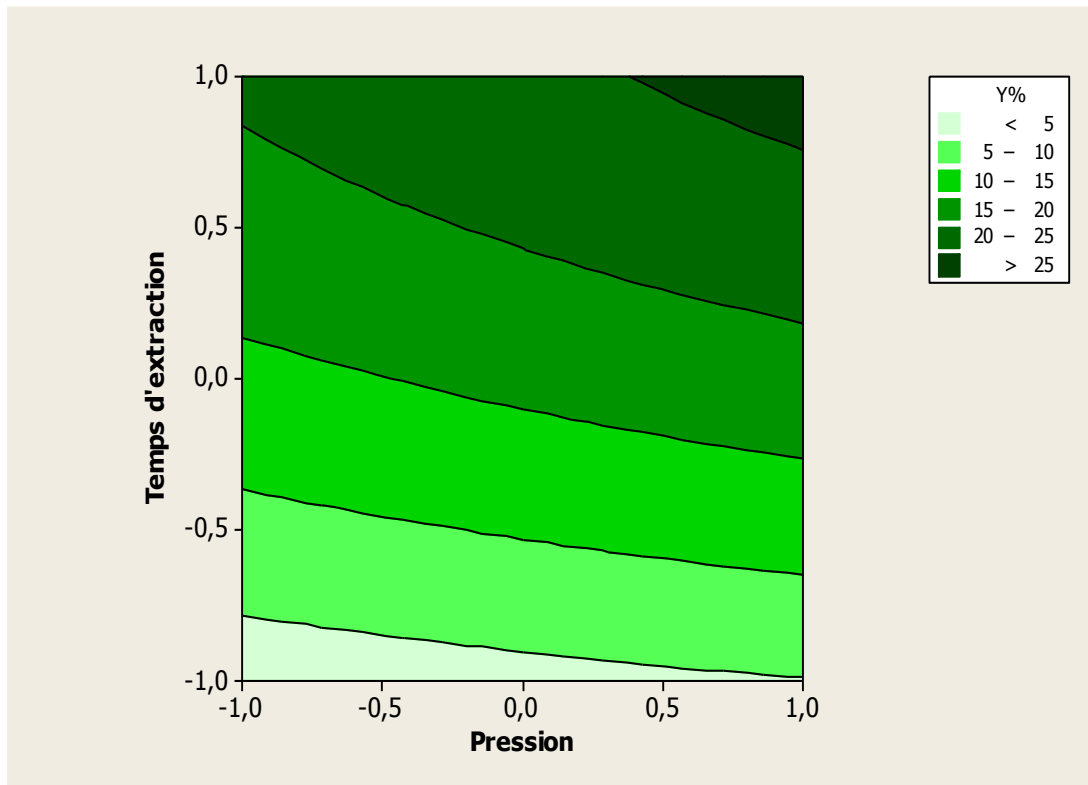
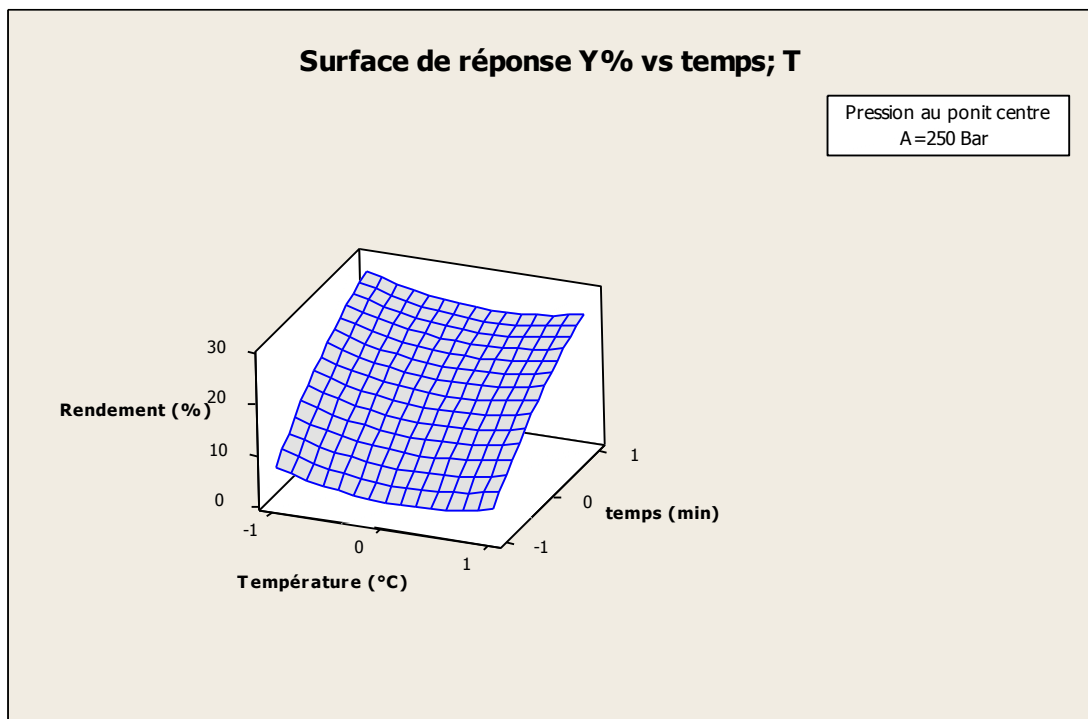
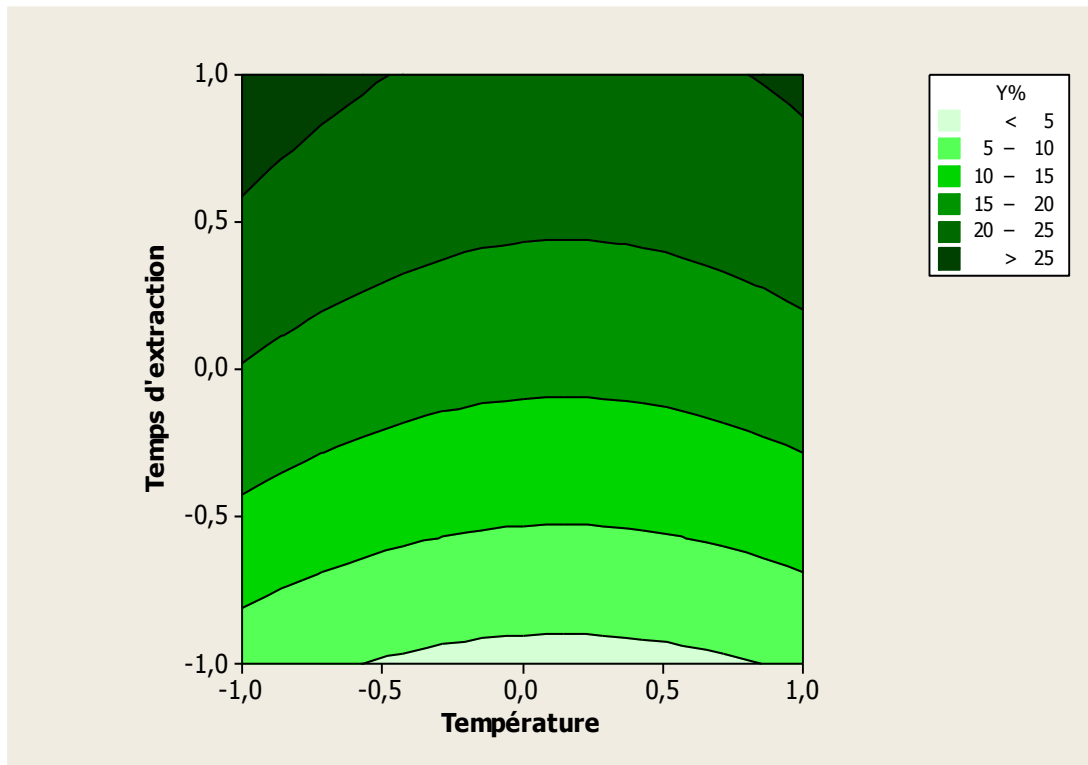


Figure 3.11: Surface de réponse et Contour du rendement en fonction du temps d'extraction-pression à 50 °C.





Figures 3.12 : Surface de réponse et Contour du rendement en fonction du temps d'extraction-température à 250 bar.

Les figures 3.10 montrent l'effet de l'interaction pression-température durant 105 min d'extraction sur le rendement des lipides. Un maximum d'extrait de 24% est obtenu à haute pression et à haute température. Cependant des pourcentages faibles sont obtenus à différentes valeurs de pression et de température séparément ; à basse pression et à haute température le rendement est inférieur à 12%, tandis qu'aux pressions élevées et aux faibles températures le rendement devient plus important (entre 16 et 18%). Dans le cas où les deux paramètres concernés sont au niveau bas le rendement en huile végétale atteint les 20% et plus.

Les figures 3.11 illustrent l'effet de l'interaction de la pression et du temps d'extraction à une température de 50 °C. Elles indiquent que les niveaux élevés de chaque paramètre ont permis d'extraire plus de 25% d'huile d'olive. La diminution de la pression et de la période d'extraction entraînent une diminution du rendement à moins de 10% sauf le cas où la pression est minimale. Le rendement est compris entre 20% et 25% pour un temps d'extraction maximale.

D'après les figures 3.12 à une pression de 250 bars et un temps d'extraction de 180 min, le rendement est maximal aux deux températures basse et haute (plus de 25%). En s'approchant de la température 50 ° C, le rendement diminue.

D'après cela, on confirme que le point optimal trouvé par le modèle se situe aux niveaux supérieurs des conditions opératoires considérées.

3.3.5. Analyses qualitatives et quantitatives de l'extrait lipidique par CPG

a) Dosage des acides gras méthyle ester (FAME)

Le passage de l'échantillon dans la CPG est fait après méthylation (voir annexe B). Cette étape conduit à la formation des acides gras méthyle esters ce qui permet leur détection. L'analyse des différents chromatogrammes obtenus (voir figure 3.13) a permis d'identifier et de quantifier tous les composants en se référant aux standards spécifiques. Les résultats sont reportés dans le tableau ci-dessous.

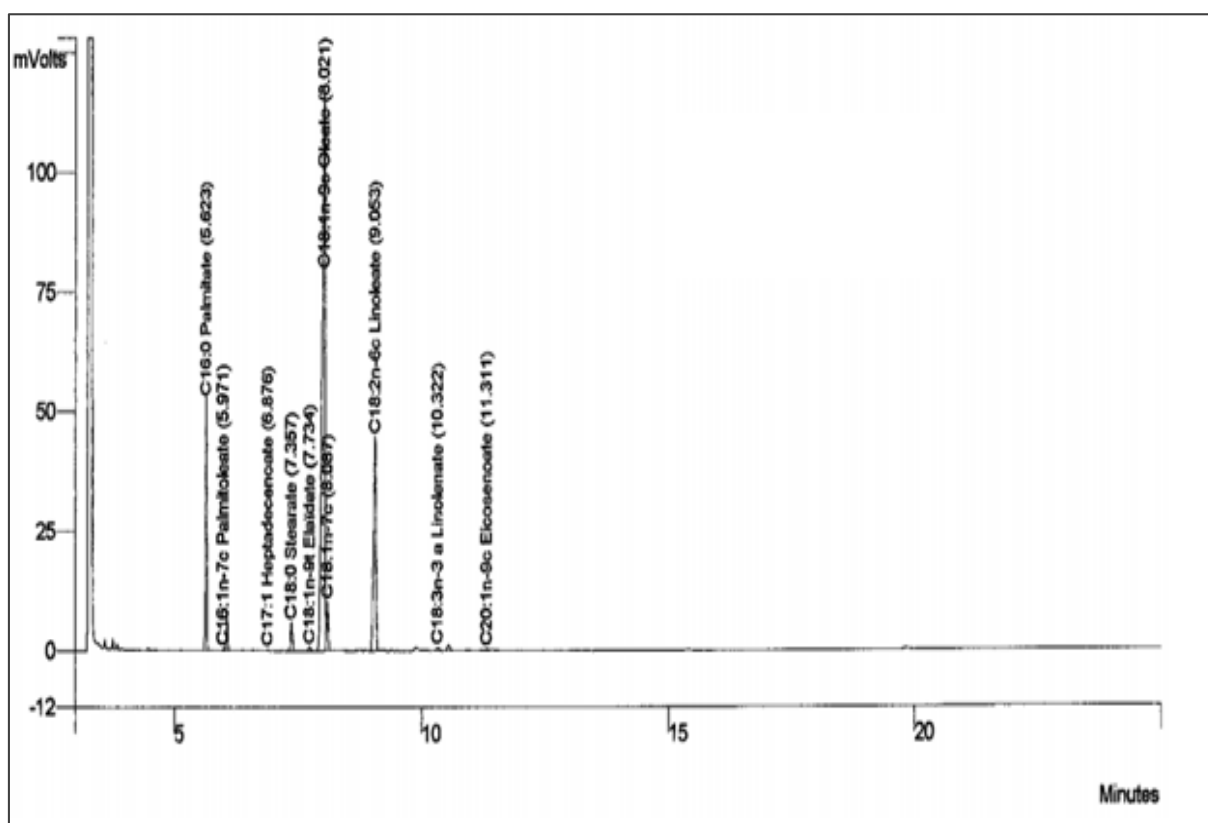


Figure 3.13 : Exemple de chromatogramme du profil d'acides gras méthyle esters (FAME).

Tableau 3.8 : Résultats d'analyse par CPG des acides gras estérifiés par méthylation FAME.

Nom du Pic	Temps de rétention	Aire du Pic	Composition en %
C16:0 Palmitate	5.623	96166	12.83
C16:1n-7c Palmitoléate	5.971	978	0.13
C17:1 Heptadécenoate	6.876	704	0.09
C18:0 Stéarate	7.357	15315	2.04
C18:1n-9t Elaïdate	7.734	2649	0.35
C18:1n-9c Oléate	8.021	444312	59.30
C18:1n-7c Vaccénate	8.087	22619	3.02
C18:2n-6c Linoléate	9.053	145404	19.41
C18:3n-3 α Linoléate	10.322	2176	0.29
C20:1n-9c Eicosenoate	11.311	1318	0.18

La composition de l'huile d'olive en acides gras méthyl esters mentionnée dans le tableau précédent est semblable à celle rapportée par Bouarroudj et al [172] et de Laincer et al [173].

Une prédominance de l'acide Oléique avec un pourcentage de 60% est notée, ce qui caractérise l'huile d'olive des autres huiles végétales. Cet acide appelé aussi Oméga 9 est mono-insaturé, composé de 18 atomes de carbones. Il est considéré comme primordial pour une diète saine, car il joue un rôle important dans la prévention de la santé humaine. Il sert à baisser le pourcentage du mauvais cholestérol (LDL-cholestérol), ce qui réduit les risques des troubles cardiovasculaires, de l'hypertension et régule les problèmes inflammatoires. Un autre rôle important est prouvé dans le renforcement des parois veineuses et le soin du diabète de type 2. Des découvertes récentes confirment aussi qu'il diminue les risques de développement de cancers de la prostate, du sein ou du colon [174].

L'acide linoléique ou Oméga 6 apparaît avec un taux de 20% approximativement. C'est un acide polyinsaturé composé de 18 atomes de carbones, considéré comme lipide dit essentiel du fait qu'il ne peut pas être synthétisé par l'organisme. Son rôle ne se limite pas à la réduction des taux du LDL-cholestérol en protégeant le système cardiovasculaire, mais aussi dans le soutien des défenses immunitaires et la protection du système nerveux [175]–[177].

L'acide palmitique se présente avec un pourcentage de 13 % approximativement. Les autres composés se trouvent en faible quantité (inférieure à 3%).

Cette composition lipidique spécifique de l'huile d'olive lui confère le titre d'un très bon aliment pour la santé humaine. Ceci est bel et bien confirmé par la bonne santé dont jouissent les habitants des pays méditerranéens.

L'effet de la méthode d'extraction sur la composition de l'huile est présenté dans le tableau 3.9.

Tableau 3.9 : Comparaison des compositions en acides gras de l'huile d'olive extraite par CO₂ supercritique et par pressage.

Acides Gras	Extraction par CO ₂ supercritique (%)	Huile de référence* (%)	Extraction par pression à froid (%) [151]
C16:0 Palmitate	12.83	15.6	14.15
C16:1n-7c Palmitoleate	0.13	1.6	1.88
C17:0 Margarate	-	-	0.06
C17 :1 Margaroleate	0.09	-	0.11
C18:0 Stéarate	2.04	2.6	2.07
C18:1n-9t Elaïdate	0.35	-	-
C18:1n-9c Oléate	59.30	63.1	67.48
C18:1n-7c Vaccénate	3.02	2.9	-
C18:2-6c Linoléate	19.41	11.5	12.93
C18:3n-3 Linolénate	0.29	0.7	0.35
C20:0 Arachidate	-	0.4	0.57
C20:1n-9c Eicosénoate	0.18	-	0.26

C22:0 Béhinate	-	1.0	0.11
C24:0 Lignocérate	-	-	0.03

*Huile d'olive extraite par méthode classique (pression) et analyser par CPG.

Qualitativement, le tableau 3.9 montre que l'huile extraite de la variété Chemlal de la région de Constantine par la technologie des fluides supercritiques a une composition très similaire à celle obtenue par les méthodes classiques comme le pressage à froid [151]. C'est un résultat très encourageant. Cependant, l'absence de certains composants est due à l'indisponibilité des standards adéquats lors de l'analyse par CPG. La seule différence à noter est limitée à l'acide Oléique et l'acide Linoléique. Le premier se trouve dans les extraits issus de la méthode classique avec plus de 7% en termes de pourcentage par rapport à l'huile extraite par CO₂-SC. Inversement, le taux d'acide linoléique dans l'extrait supercritique est plus important.

b) Dosage des acides gras libres et des glycérides

L'analyse des glycérides nécessite aussi un prétraitement différent de la méthylation (qui précède le dosage des acides gras méthyles esters). Ce traitement sert à séparer les acides gras libres et les glycérides des autres composés qui se trouvent en faibles proportions. À la sortie de l'équipement d'analyse, un détecteur à ionisation de flamme a donné le chromatogramme ci-dessous (la figure 3.14). Les pics sont ensuite identifiés par étalonnage interne.

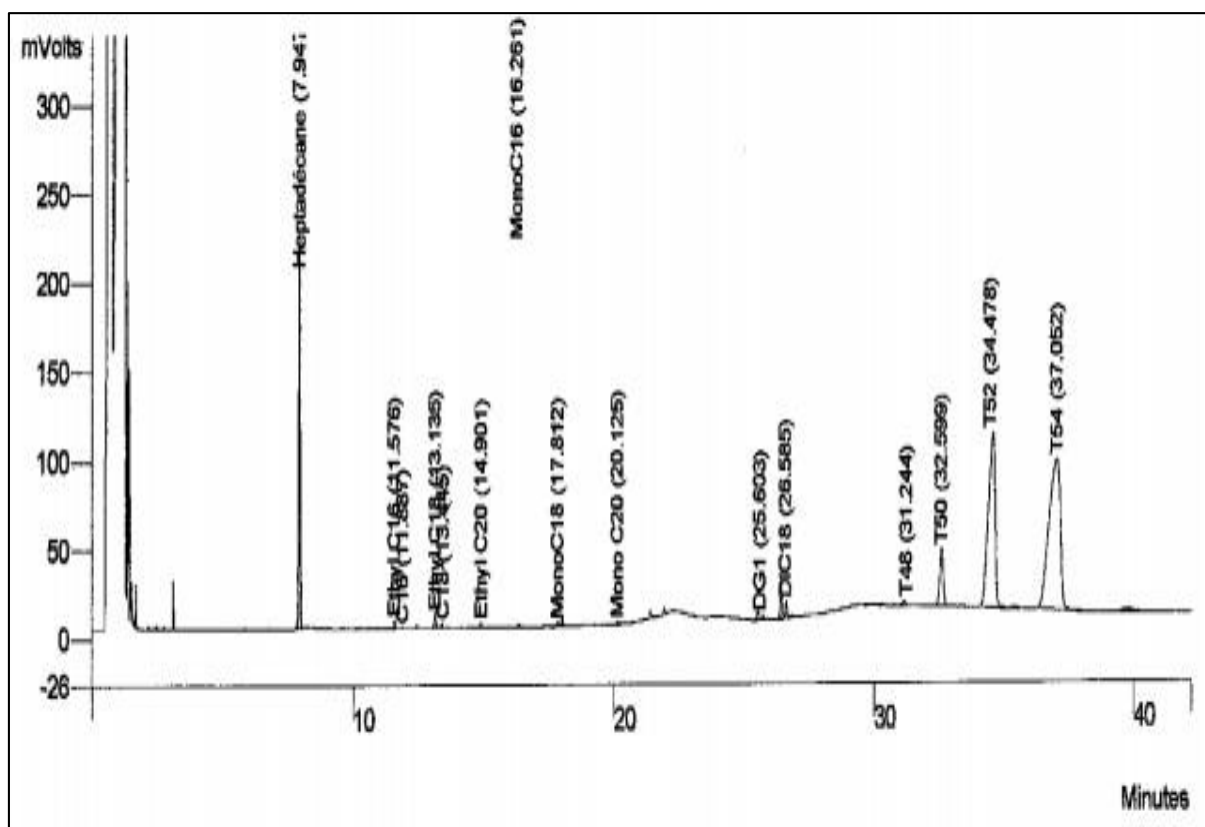


Figure 3.14 : Exemple de Chromatogramme du profil acides gras libres et glycérides.

Tableau 3.10 : Résultats d'analyse par CPG des acides gras libres et des glycérides.

Nom du Pic		Temps de rétention (min)	Aire du Pic	Résultat en mg/100mg
	Heptadécane	7.947	610150	Standard Interne
ESTERS	Ethyle C16	11.576	13323	0.136
	Ethyle C18	13.135	33768	0.356
	Ethyle C20	14.901	8043	0.085
Acides gras libres	C16	11.887	2531	0.027
	C18	13.445	7915	0.083
Mono glycérides	MonoC16	16.261	7867	0.086
	MonoC18	17.812	31606	0.345

	MonoC20	20.125	4758	0.052
Di-glycérides	DG1	25.603	34847	0.479
	DG C18	26.585	132681	1.822
Triglycérides	T48	31.244	17863	0.346
	T50	32.599	305517	6.360
	T52	34.478	1779050	41.245
	T54	37.052	2580833	61.950

Ce tableau montre une prédominance des triglycérides dans la composition de l'huile d'olive analysée avec un taux supérieur à 95%. Les di-glycérides avec une très faible portion (2% approximativement) et autres composants tels que les mono glycérides, les acides gras libres forment la proportion restante. Des résultats similaires sont présentés par Victor et al [178].

3.3.6. Effet des paramètres opératoires sur la composition de l'huile d'olive extraite par CO₂-SC

Afin d'étudier l'effet des conditions opératoires sur la composition lipidique des extraits obtenus par CO₂ supercritique, cinq échantillons sont analysés par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG). Le sixième échantillon est une huile dite de référence qui est extraite par la méthode classique (pressage). Les conditions expérimentales des échantillons sont répertoriées dans le tableau qui suit :

Tableau 3.11 : Conditions opératoires des échantillons.

	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Ech6	Ech1*
Pression (bar)	300	300	300	200	250	-
Température (°C)	60	40	60	40	50	-

* huile de référence.

Notons que tous les échantillons ont subi une méthylation. Les résultats de l'analyse des acides gras méthyles esters sont regroupés dans le tableau 3.12 :

Tableau 3.12 : Effet des paramètres opératoires sur la composition en acides gras.

Acide gras		Ech1	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Ech6
C14:0	Myristique	0.6	0.4	0.1	0.0	0.0	0.0
C16:0	Palmitique	15.6	13.4	13.8	13.8	13.3	13.6
C18:0	Stéarique	2.6	2.6	2.4	2.2	2.1	2.1
C20:0	Arachidique	0.4	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3
C22:0	Behénique	1.0	0.9	0.8	1.0	0.6	0.6
Total Acides Gras Saturés		20.2	17.6	17.4	17.3	16.3	16.6
C16:1n7	Palmitoléique	1.6	1.7	1.8	1.9	1.8	1.9
C18:1n9t	Elaidique	-	-	0.8	0.5	0.3	0.3
C18:1n9	Oléique	63.1	58.9	58.4	57.8	59.2	58.4
C18:1n7c	Vaccénique	2.9	3.1	3.1	3.0	3.0	3.0
Total Acides Gras Mono-insaturés		67.6	63.7	64.1	63.2	64.3	63.6
C18:2n6	Linoléique	11.5	18.2	18.0	19.2	18.9	19.3
C18:3n3	α - Linoléique	0.7	0.5	0.4	0.5	0.5	0.5
Total Acides Gras Polyinsaturés		12.2	18.7	18.4	19.7	19.4	19.8

L'écart entre les compositions des échantillons extraits par la méthode classique (pression) et par fluide supercritique ne dépasse pas les 5% par rapport aux acides gras saturés et mono-insaturés. Cependant pour les acides gras polyinsaturés, cette différence peut atteindre 8%. Cette variation de la composition en fonction des paramètres opératoires n'excède pas 2% en comparant les échantillons extraits par CO₂-SC.

L'acide myristique se trouve dans l'huile de référence et les extraits obtenus à température et pression élevées sous forme de traces. La même observation est notée

pour les acides stéarique, arachidique et béhenique sauf que la quantité trouvée dans l'huile de référence est identique à celle des extraits par CO₂ supercritique à 300 bars et 60 °C. Cependant, le taux d'acide palmitique dans l'huile de référence est de 16% approximativement, ceci est supérieur aux proportions dans les échantillons issus de la méthode classique (14 %).

Les taux des acides palmitoléique, élaïdique oléique et vaccénique dans les extraits par CO₂ supercritique sont comparables à ceux obtenus pas pressage. Pour l'acide oléique, nous notons une légère différence.

Le seul acide qui présente une différence remarquable entre les extraits obtenus par les deux méthodes est l'acide linoléique. Il représente 19 % approximativement des acides gras dans les échantillons résultants de la méthode supercritique, tandis qu'il est présent dans l'huile par pressage avec seulement 11.5 %. En augmentant la température et la pression, un faible changement de la quantité de cet acide est noté. Il en est de même pour l'acide α -Linoléique.

L'effet des conditions opératoires sur la composition en glycérides est aussi étudié en analysant les échantillons par CPG. L'identification de ces composés est faite par comparaison des temps de rétention avec les standards de référence, tandis que la quantification est réalisée par étalonnage interne. Les résultats de cette analyse sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 3.13 : Effet des paramètres opératoires sur la composition en glycérides. (Résultats exprimés en % massique).

Echantillons	Ech1*	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Ech6
Acides gras libres	2.33 +/- 0.07	1.32 +/- 0.10	0.72 +/- 0.02	0.58 +/- 0.05	0.54 +/- 0.10	0.56 +/- 0.06
Mono glycérides	0.54 +/- 0.08	0.67 +/- 0.08	0.35 +/- 0.02	0.34 +/- 0.01	0.34 +/- 0.04	0.33 +/- 0.00
Di-glycérides	4.84 +/- 0.02	5.29 +/- 0.23	3.92 +/- 0.02	3.59 +/- 0.05	3.44 +/- 0.53	3.51 +/- 0.19
Triglycérides	92.3	92.72	95.0	95.49	95.68	95.59

	+/- 0.17	+/- 0.41	+/- 0.02	+/- 0.01	+/- 0.67	+/- 0.12
--	----------	----------	----------	----------	----------	----------

* Huile d'olive par pressage

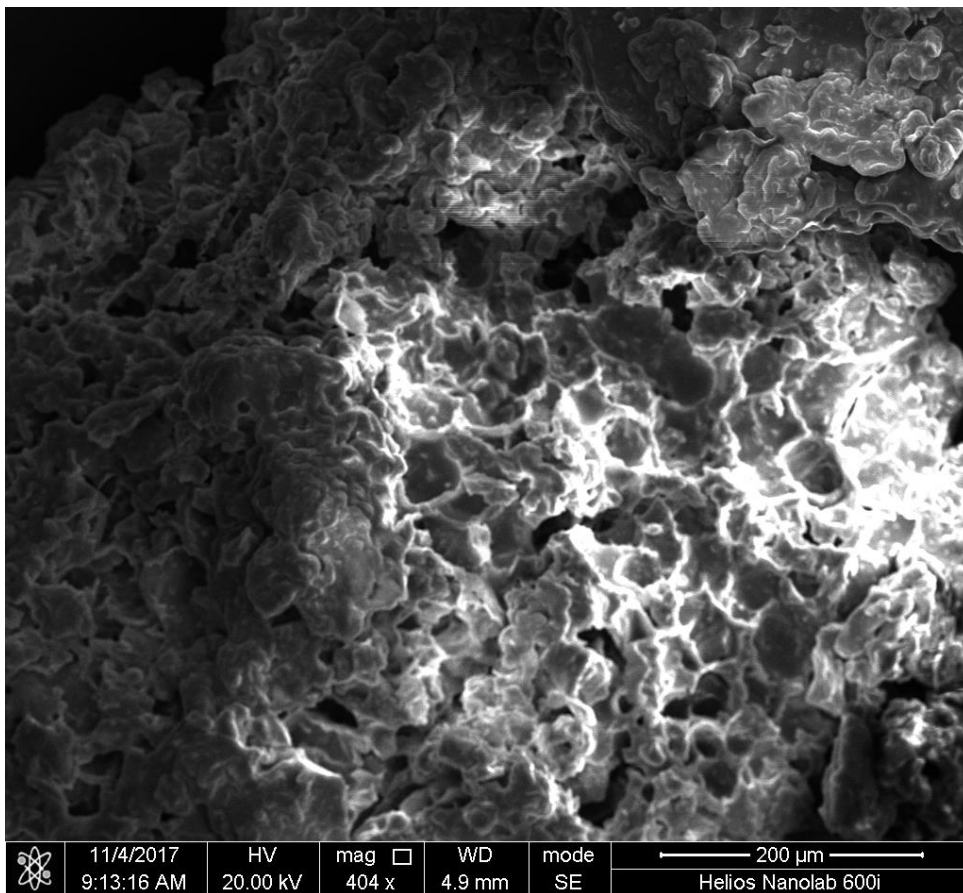
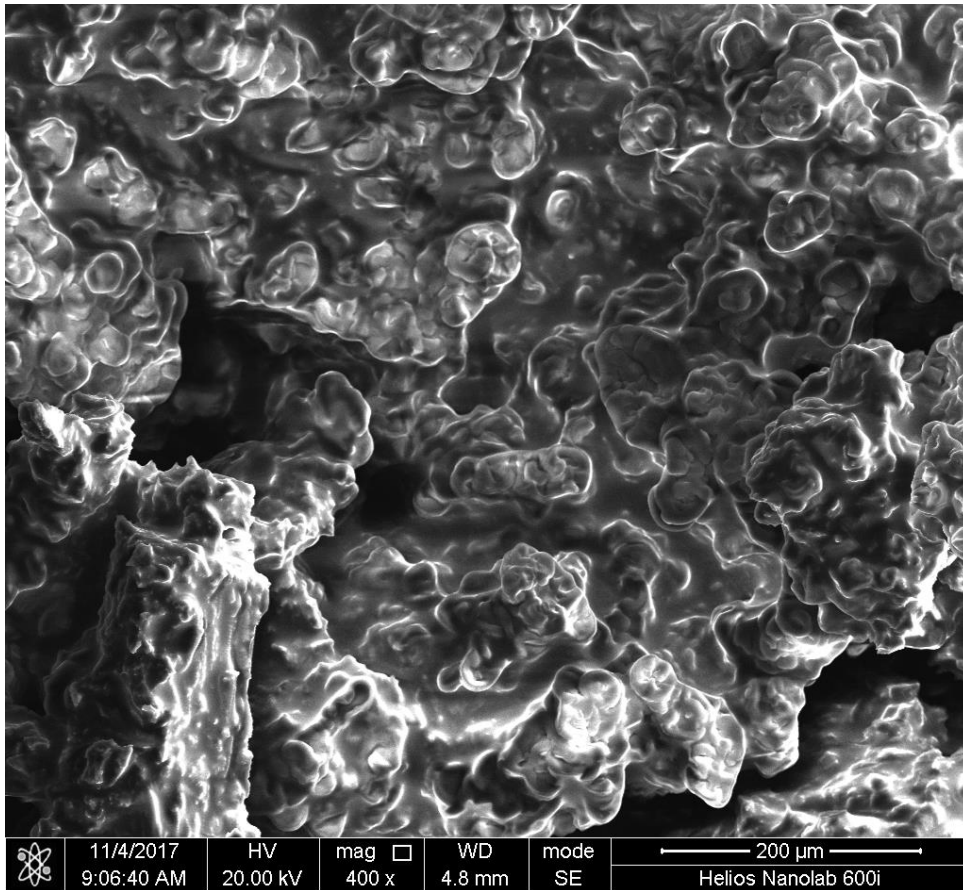
Il est remarquable que les composés majoritaires –triglycérides- constituant l'huile végétale étudiée (huile d'olive) se trouvent dans les échantillons issus de l'extraction par CO₂ supercritique avec des quantités supérieures à celles de l'huile pressée. Cette quantité augmente faiblement en diminuant la température et la pression.

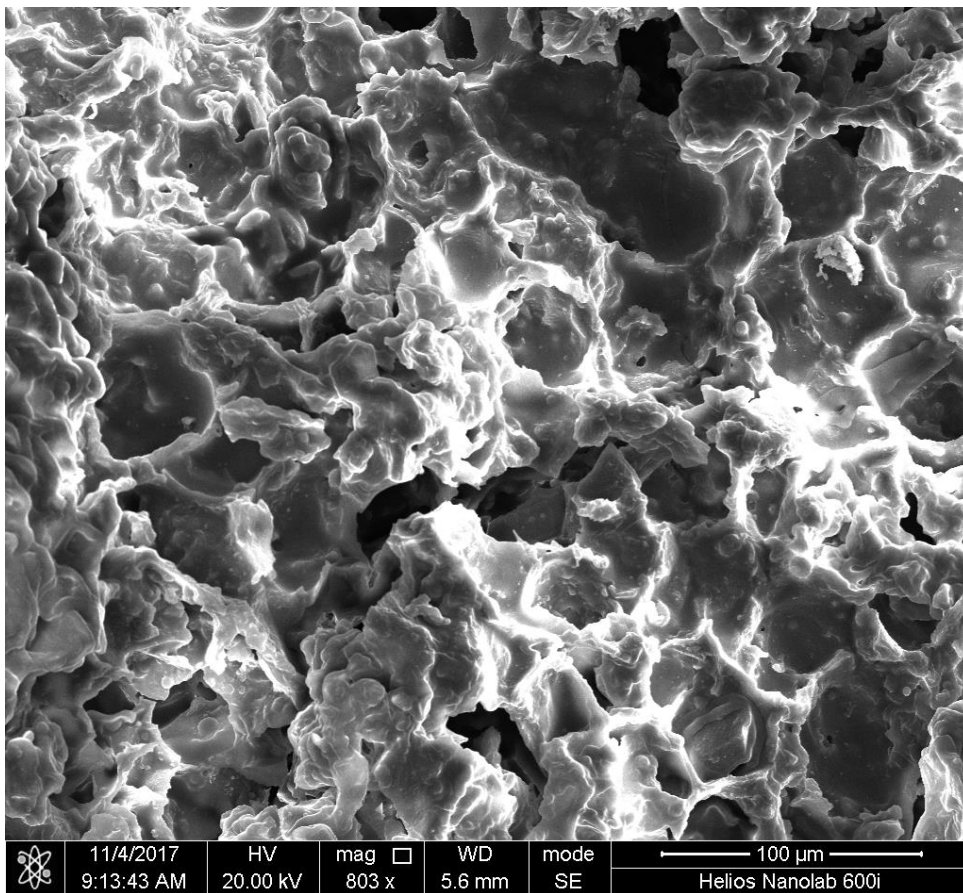
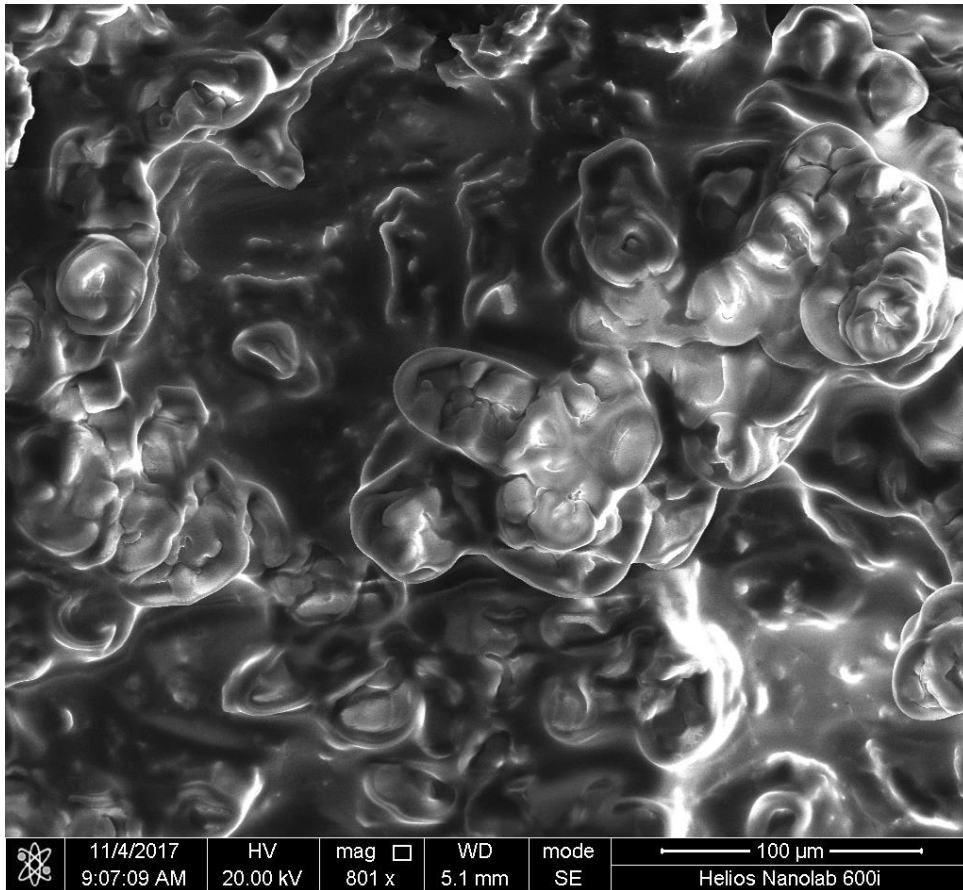
Concernant les autres constituants ; les mon-glycéride, les di-glycérides et les acides gras libres, une faible variation est notée lors du changement des conditions de l'expérience, de même si on compare les extraits des deux méthodes.

On conclut que ces résultats confirment la similarité des extraits des échantillons obtenus par les deux méthodes présentées (par CO₂ supercritique et par pression) et ceux de la littérature (comme montré dans la partie précédente). Cependant, les conditions opératoires n'ont montré aucune influence sur la qualité des extraits contrairement au rendement.

3.3.7. Analyse de la structure par MEB

Après avoir analysé la composition des extraits huileux du point de vue qualitatif et quantitatif, une analyse morphologique de la matrice solide utilisée (fruits d'olives broyés) est effectuée en prenant une masse de ces fruits avant et après extraction. Le passage de ces derniers au Microscope Electronique à Balayage (MEB) a permis de visualiser les structures à différentes échelles (voir figures 3.15).





b)

Figures 3.15 : MEB Monographies de l'échantillon d'olive avant et après extraction a) à l'échelle de 200 μm , b) à l'échelle de 100 μm .

Les deux premières images à l'échelle de 200 μm montrent initialement (avant extraction) une surface rugueuse et irrégulière caractérisée par une série de couches uniformément imprégnées d'huile. Cependant l'image suivante prise à la même échelle de 200 et qui correspond au solide après extraction, montre clairement une disparition de la majorité de la phase fluide, ce qui justifie l'effet des pressions élevées pour l'obtention des meilleurs rendements d'extraction de l'huile.

Ce phénomène est mieux illustré dans les deux images qui suivent. Elles sont prises à une échelle de 100 μm . La première montre des cellules intactes chargées et entourées par le soluté (l'huile). Il est clairement récupéré après extraction montrant l'éclatement des cellules libérant l'huile. Cette dernière confirme aussi l'effet des hautes pressions et le taux élevé des extraits.

3.3.8. Valorisation des sous-produits

Le développement technologique dans ces dernières années cherche non seulement à faciliter la vie des personnes mais aussi à la préservation de leur santé et leur environnement en donnant priorité aux procédés verts, conduisant à des produits de très bonnes qualités et à minimiser les déchets résultants afin de préserver la nature.

Pour cela, une étude préliminaire faite sur deux sous-produits résultants de l'extraction de la fraction lipidique contenue dans les fruits d'olive par CO_2 supercritique.

a) Cire

Selon les conditions opératoires appliquées au cours du procédé, différentes fractions pâteuses jaunâtres et molles sont obtenues lors de l'extraction des corps gras. Ces fractions sont constituées d'acides gras de chaînes longues (>24 atomes de carbones) et d'autres de chaînes moyennes rattachées entre elle par un groupement cyclique.

La séparation facile de cette phase est par un procédé purement physique, en stockant l'extrait huileux dans un congélateur à une température de 5°C ou moins. Deux phases

distinctes se forment et peuvent être séparées à l'aide d'une micropipette comme illustré dans la figure suivante.



a)

b)

Figures 3.16: Cire présente dans une huile extraite: a) par CO₂-SC, b) par Pressage à froid.

La figure 3.16 montre les deux fractions présentes dans l'huile extraite par CO₂ supercritique des olives de la région de Constantine et l'autre par la méthode classique (par pression) en utilisant des fruits d'olives de la région de Bejaïa. Il est clair que le pourcentage de la cire de l'extrait supercritique représente un tiers du volume total (1/3), par contre dans l'huile extraite par méthode classique, elle représente un cinquième du volume total (1/5) de l'extrait.

Pour valoriser cette fraction de cire, un test microbiologique est réalisé afin de voir si cette dernière à son état brut (sans aucun traitement) présente une activité antimicrobienne et antibactérienne, surtout qu'elle est issue d'un procédé bio.

Pour ce faire, des petites quantités de cire brute sont mises sur la surface des boîtes de pétri (90 mm de diamètre) initialement préparées. L'évaluation de l'activité antimicrobienne de cette cire consiste à estimer l'inhibition de la croissance des microorganismes testés ; *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, une bactérie et un champignon. Des protocoles similaires à ceux appliqués dans notre étude sont

rapportés en détail dans la littérature [179]-[181]. Cette méthode est dite aromatochrome par diffusion en milieu gélosé.

Le test effectué est présenté dans les figures suivantes :

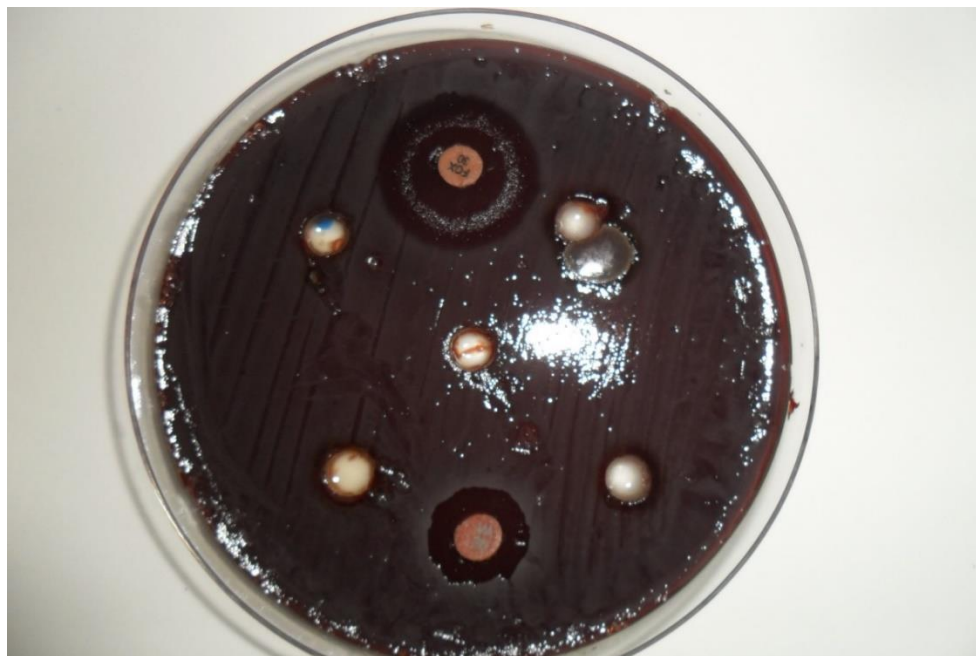


Figure 3.17 : Activité antibactérienne de la cire brute testée sur *Staphylococcus aureus*.



Figure 3.18 : Activité antifongique de la cire brute testée sur *Candida albicans*.

La figure 3.17 montre une très faible zone d'inhibition autour des gouttes de la cire brute en comparaison avec celle observée autour des disques de contrôles qui

contiennent des produits à effet antibactérien connu. Cela peut être expliqué par la forte concentration du produit testé, ce qui empêche la dispersion de la zone d'inhibition. La même constatation est notée à partir de la figure 3.18. Une zone d'inhibition de faible diamètre est visuellement observée (à l'œil nu) autour des échantillons de la cire brute, ce qui prouve aussi l'existence d'une activité antifongique limitée par la forte concentration du produit en question.

Ces résultats permettent de valider la présence d'une activité antibactérienne et antifongique de la cire sur les microbes testés. Cette étude peut être approfondie et complétée pour quantifier ses effets en appliquant une dilution de la cire.

b) Déchet d'olive après extraction supercritique

Une problématique relevée au niveau dans les ateliers qui produisent de l'huile d'olive (par pressage). Il s'agit du déchet de ce procédé qui est considéré comme source de pollution dans les pays développés. Ce résidu contenant une quantité d'huile (destiné à la production de l'huile de grignon dans certains pays) est jeté dans la nature ou brûlé.

De ce fait, un test d'adsorption de deux produits est élaboré en utilisant le résidu des fruits d'olive à son état brut sans aucun prétraitement physique ou chimique comme bio-adsorbant. Le premier produit est le bleu de méthylène (un colorant), tandis que le deuxième est une substance pharmaceutique qui est le paracétamol. Les résultats des tests d'adsorption obtenus sont rapportés dans les figures suivantes :

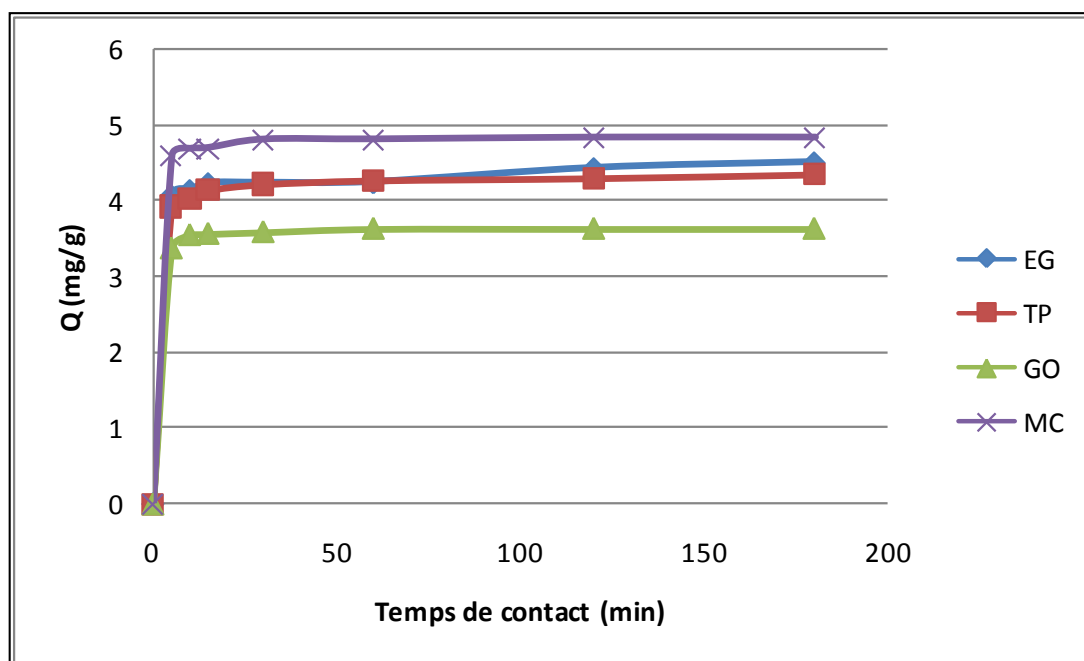


Figure 3.19 : Sorption du Bleu de Méthylène sur différents supports bruts
aux conditions : $Q=10$ g/l, $v=400$ tr/min, $T=20^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=6$.

La figure 3.19 présente la quantité de soluté retenue par les différents adsorbants testés en fonction du temps. Cette représentation montre une adsorption effective et concurrentielle du bleu de méthylène présentée par notre support brut qui est les grignons (GO) en comparaison avec les autres supports utilisés ; le marc du café (MC), les tiges des palmiers (TP) et les écorces de grenade (EG). Dans les premières dix minutes, une sorption presque instantanée a été observée suivie d'un pallier correspondant à une saturation d'adsorbants. Ce résultat est très encourageant et prometteur.

Le deuxième test est réalisé avec une solution contenant une substance pharmaceutique à savoir le paracétamol. Les figures suivantes illustrent les résultats obtenus lors de cette expérience.

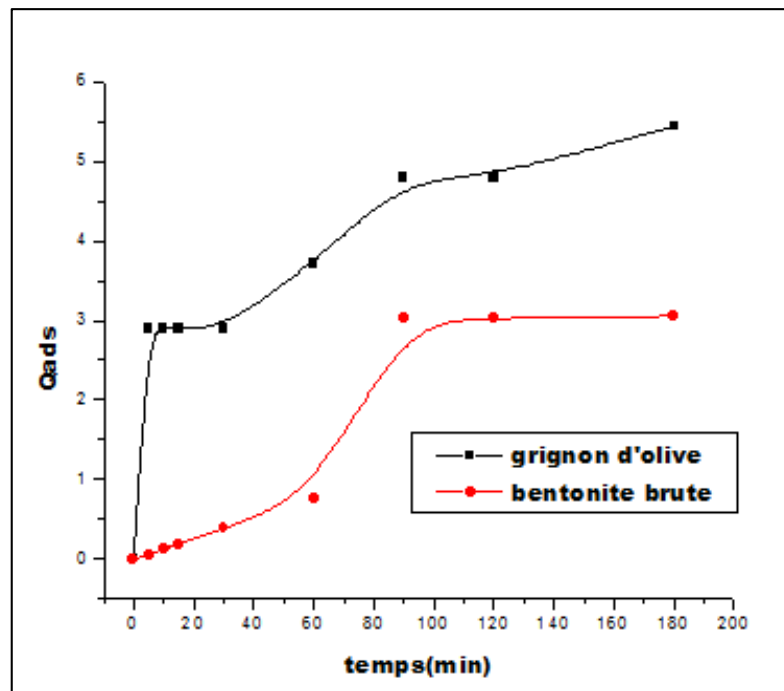


Figure 3.20 : Effet du temps de contact sur la rétention du paracétamol par le grignon d'olive et la bentonite brute, $Q=50\text{mg/l}$, $\text{ph}=6.12$, $T= 20^{\circ}\text{C}$.

La figure 3.20 présente la quantité du paracétamol éliminé par deux supports bruts ; bentonite et grignons d'olive (GO) résultant du processus d'extraction. Une très bonne sorption est observée avec les GO, elle est presque instantanée au début (les premières dix minutes), puis elle devient lente et tend vers une valeur limite. Au début, les pores sont vides ce qui favorise l'adsorption du polluant. Au fur et à mesure, les pores deviennent pleins ce qui conduit à un abaissement de la quantité du paracétamol retenue jusqu'à la saturation total des pores. L'histogramme suivant décrit mieux le rendement de l'adsorption de la substance visée.

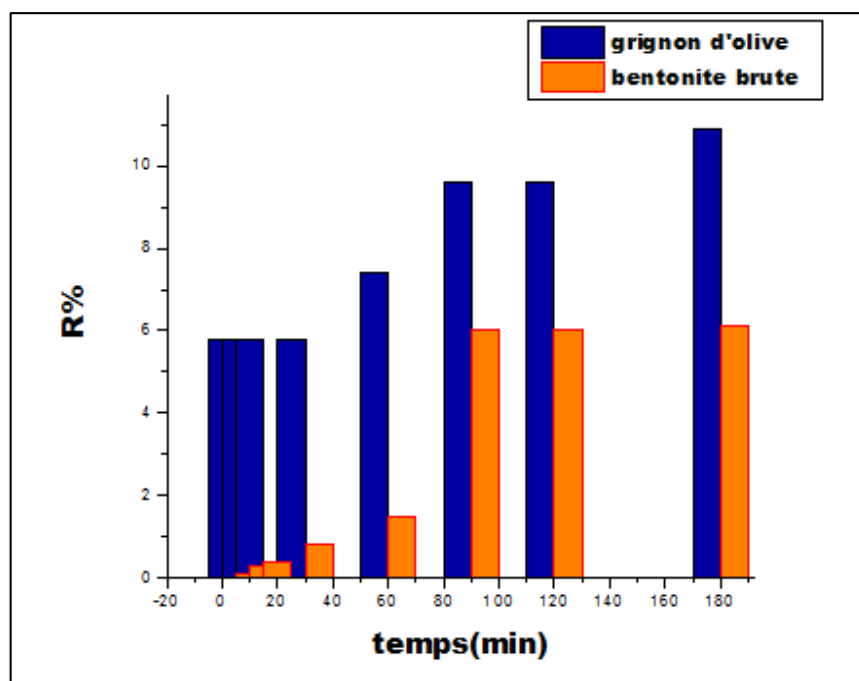


Figure 3.21 : Rendement de l'élimination du paracétamol par les deux adsorbants.

Il est clair que durant la première heure, le comportement des grignons d'olive bruts est beaucoup mieux que celui présenté par la bentonite brute, après cette période le rendement de l'élimination du polluant reste toujours mieux comparativement à celui de la bentonite brute. Un autre résultat prometteur sur le comportement du résidu de l'extraction par CO₂ supercritique vis-à-vis l'élimination des polluants de nature pharmaceutiques.

Ces résultats nous montrent que les résidus solides de l'extraction par fluides supercritiques à leurs états bruts ont de très bons comportements vis-à-vis de l'élimination des différents polluants. Des traitements physique ou chimique peuvent améliorer nettement ces constatations.

3.4. Conclusion

Les résultats présentés dans ce chapitre concernant l'extraction par CO₂ supercritique sont très satisfaisants du point de vue qualitatif et quantitatif. D'autre part, la valorisation des sous-produits est une valeur ajoutée à ce travail confirmant la notion de « procédé vert ».

CHAPITRE IV

CHAPITRE IV : MODELISATION

4.1. Introduction

La validation des résultats expérimentaux rapportés dans le chapitre précédent fait appel au modèle qui décrit le phénomène d'extraction par fluides supercritiques. Dans cette partie nous essayons d'élaborer un modèle traduisant l'extraction de l'huile d'olive par CO₂ supercritique dans des conditions de pressions, de température et de temps d'extraction bien définis.

Différents modèles élaborés, testés et validés par plusieurs études rapportés dans la littérature dans ce contexte sont présentés dans cette partie du travail, en accent sur le modèle du cœur rétrécissant « Shrinking Core Model » développé lors de cette étude en précisant l'originalité apportée.

4.2. Différents modèles décrivant l'extraction par fluides supercritiques

De nos jours, l'extraction par fluide supercritique (SFE) est apparue comme technique alternative supérieure pour l'extraction d'espèces bioactives à partir de produits naturels, en raison de sa réduction du temps d'extraction, de sa consommation réduite de solvants organiques en donnant des extraits de très haute qualité, d'être convenable aux substances thermosensibles et son respect à l'environnement [182].

Compte tenu des processus et des applications techniques, deux facteurs majeurs affectent le développement de cette technologie, à savoir la solubilité du soluté extrait dans le fluide supercritique et le taux de transfert de masse de ce dernier. Les efforts de recherche sont dirigés vers la mesure et la modélisation des comportements de la solubilité des huiles dans le CO₂-SC et leur cinétique de transfert de masse en fonction de divers paramètres et leur influence sur le rendement d'extraction.

Sachant que la modélisation mathématique des données expérimentales est une tâche courante dans le domaine de l'ingénierie et des sciences appliquées, un certain

nombre de modèles d'extraction cinétique est développé pour prédire l'extraction par fluides supercritiques [183], [184]. Ces modèles tentent de décrire les phénomènes qui y siègent et permettent d'optimiser certains paramètres difficilement accessibles expérimentalement.

Basés sur des mécanismes de transfert de masse et d'équilibres de phases, plusieurs modèles sont proposés [185], [186] par la suite.

4.2.1. Modèle BIC (Broken and Intact Cells)

Ce modèle repose sur le concept de cellules brisées et intactes, introduite par Sovová [185]. L'huile totale disponible dans les cellules végétales est considérée comme une huile facilement accessible à la surface des cellules brisées contrairement aux cellules intactes, dû à la faible résistance au transfert. Ceci est directement lié au prétraitement de la matrice solide (feuilles, grains, écorces ...etc) par broyage.

Dans ce cas, le processus d'extraction est divisé en trois périodes contrôlées par différents mécanismes de transfert de masse [185] :

- La première période est convective, le transfert du soluté se déroule rapidement. Ceci est attribué à la présence de l'extrait à la surface externe de la matrice végétale.
- Dans la seconde période transitoire, le mécanisme de transfert est une combinaison de la convection et de la diffusion. Le soluté dans les cellules intactes commence à être extrait ainsi que celui des cellules brisées.
- Le phénomène dans la troisième période devient purement diffusionnel dans les cellules intactes. Par contre le soluté dans les cellules brisées est totalement épuisé.

Les équations des bilans de masses régissant ces phénomènes au cours des trois périodes d'extraction sont [185]:

Dans la phase fluide :

$$\rho_f u \frac{\partial y}{\partial z} + \rho_f \varepsilon \frac{\partial y}{\partial t} = J(x, y) \quad (4.1)$$

Dans la phase solide :

$$-\rho_s (1 - \varepsilon) \frac{\partial x}{\partial t} = J(x, y) \quad (4.2)$$

Où :

J : Flux du transfert de masse à l'interface [kg/m² s].

ρ_f : Masse volumique du fluide supercritique [kg/m³].

u : Vitesse superficielle du fluide [m/s].

ε : Fraction de vide du lit, déduite expérimentalement par la relation $\varepsilon = V_2/V_1$ où V_1 est le volume d'eau ajouté à l'éprouvette contenant l'échantillon. V_2 est le volume adsorbé après ajout de V_1 . La valeur moyenne dans notre cas est 0,472.

Après intégration des équations de bilans, le profil de concentration dans les deux phases fluide et solide en fonction du temps est donné par [185]:

$$C(t) = x_0 - \frac{1}{H} \int_0^H x(z, t) dz \quad (4.3)$$

Le modèle BIC a de nombreuses versions selon les différentes formules de $J(x, y)$ rapportées dans la littérature. Elles dépendent des différentes hypothèses adoptées pour décrire les mécanismes de transfert de masse dans les particules solides [185], [187].

Reverchon et Marrone [188] ont modifié le modèle BIC en admettant un mécanisme de résistance en parallèle, par lequel les cellules brisées et intactes transfèrent à la fois le soluté au fluide avec une cinétique différente, et un flux total transféré égal à la somme des deux [189].

4.2.2. Modèle HBD (Hot Ball Diffusion)

Il a été proposé par Bartle et al. [190] Ce modèle traite l'extraction du soluté d'une matrice solide de manière analogue à un phénomène de transfert de chaleur, en considérant les particules solides comme des boules chaudes qui se refroidissent dans un environnement uniforme. Les particules sont supposées sphériques remplies avec un soluté uniformément distribué, diffusant à travers la matrice de manière analogue au transfert de chaleur [190], [191]. Contrairement au modèle de BIC où une partie de soluté est facilement accessible [185], ce modèle de boule chaude est suggéré pour les matrices qui contiennent de petites quantités extractibles.

La représentation mathématique de ce modèle prend la forme suivante [192]:

$$F_M = -C_{S_0} D_e \left[\frac{1}{r^2} \frac{\partial(r^2 x_r)}{\partial r} + \frac{1}{r \sin \theta} \frac{\partial(x_\theta \sin \theta)}{\partial \theta} + \frac{1}{r \sin \theta} \frac{\partial x_\varphi}{\partial \varphi} \right] \quad (4.4)$$

Où :

F_M : Densité de flux [$\text{g}_{\text{soluté}}/\text{m}^2 \text{ s}$].

C_{S0} : Concentration initiale du soluté dans le solide [g/m^3].

D_e : Coefficient de transfert effectif [m^2/s].

x_r, x_θ, x_φ : Concentrations adimensionnelles en fonction du temps dans les coordonnées sphériques.

Les hypothèses présent en considération dans ce modèle supposent que la concentration de soluté est fonction uniquement du rayon r , le bilan de matière différentiel s'écrit alors :

$$\frac{\partial C|_R}{\partial t} = D_e \left[\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial C|_R}{\partial r} \right) \right] \quad (4.5)$$

La solution générale appliquée à une seule particule est donnée par [193]:

$$\frac{C|_R - C}{C_{S_0} - C} = \frac{4R}{r} \sum_k \frac{\sin \beta_k - \beta_k \cos \beta_k}{2\beta_k^2 - \beta_k \sin 2\beta_k} \sin \left(\frac{\beta_k r}{R} \right) \times \exp \left[- \left(\frac{\beta_k}{R} \right)^2 D_e t \right] \quad (4.6)$$

$$\text{Avec : } \beta_k = 1 - k_f \frac{R}{D_e} \quad (4.7)$$

La quantité totale de soluté extraite peut s'écrire donc selon la formule suivante :

$$\frac{m_t}{m_0} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \exp \left(- \frac{\pi^2 D_e t}{R^2} \right) \quad (4.8)$$

Cette équation a été utilisée par Ohira et al [194] et modifiée par Hojnik et al [195]. Ils suggèrent la présence de deux processus de diffusion simultanés à l'intérieur du solide ; un rapide et l'autre lent. L'équation 4.8 devient :

$$\frac{m_t}{m_0} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \left[f_1 \exp \left(- \frac{\pi^2 D_{e1} t}{R^2} \right) + f_2 \exp \left(- \frac{\pi^2 D_{e2} t}{R^2} \right) \right] \quad (4.9)$$

Avec : f_1 et f_2 sont les fractions de soluté extraite avec différents coefficients de diffusion D_{e1} et D_{e2} respectivement.

4.2.3. Modèle DLT (Diffusion Layer Theory)

D'autres modèles théoriques relativement simples ont été utilisés afin de décrire l'extraction par CO_2 supercritiques. Veress [186] a supposé le modèle dit Théorie de couche de diffusion (DLT) pour quantifier le processus d'extraction des

cannabinoïdes de la *marihuana* et du *haschisch* par CO₂-SC [186]. En se basant sur la première loi de Fick et après réarrangement, l'équation de ce modèle prend la formule suivante :

$$\frac{m_t}{m_0} = 1 - \frac{\beta F}{\beta V - F} \left(\frac{V}{F} e^{-\left(\frac{V}{F}\right)t} - \frac{1}{\beta} e^{-\beta t} \right) \quad (4.10)$$

Avec :

$$\beta = 4\pi R^2 \frac{D_e}{Vh} \quad [\text{s}^{-1}] \quad (4.11)$$

m_t : Masse de soluté à un temps t [g].

m_0 : Masse initiale du soluté [g].

F est le débit volumique du fluide-SC [m³/s].

V est le volume vide de l'extracteur [m³].

4.2.4. Modèle DM (Desorption Model)

L'autre modèle théorique est le modèle de désorption « Desorption Model ». C'est un modèle où l'extraction par fluides supercritiques est considérée comme désorption du soluté à partir de la matrice solide. Il a été établi pour la première fois par Tan et Liou [196] pour décrire l'élimination du toluène du charbon actif avec du CO₂ à son état supercritique. Les équations de bilans utilisées sont :

Bilan massique dans la phase fluide :

$$\frac{\partial y}{\partial t} + u \frac{\partial y}{\partial z} = - \frac{1 - \varepsilon}{\varepsilon} \frac{\rho_s}{\rho_f} \frac{\partial x}{\partial t} \quad (4.12)$$

Avec :

x : Concentration de soluté dans la phase solide [g_{soluté}/g_{solide}].

y : Concentration de soluté dans la phase fluide [g_{soluté}/g_{solvent}].

ρ_s, ρ_f : Masses volumiques du solide et du fluide respectivement [g/cm³].

ε : porosité du lit.

u : Vitesse superficielle du CO₂ supercritique [m/s].

Bilan massique dans le solide :

$$(1 - \varepsilon) \rho_s \frac{\partial x}{\partial t} = -k_d x \quad (4.13)$$

L'application des conditions initiales, des conditions aux limites et après réarrangement, l'équation qui présente la concentration à la sortie du lit prend la forme :

$$y = \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} x_0 \frac{\rho_s}{\rho_f} \left[\exp\left(\frac{\varepsilon k_d H}{u}\right) - 1 \right] \exp(-k_d t) \quad (4.14)$$

k_d : Constante du taux de désorption [s^{-1}].

H : Hauteur du lit [m].

4.2.5. Modèle PCM (Partitioning Coefficient Model)

Le dernier modèle théorique présenté dans cette étude est le modèle du coefficient de partage « PCM » proposé par Kubátová et al. [197]. Il a été développé à la base d'un paramètre K_p appelé coefficient de partage thermodynamique, qui est défini comme le rapport entre la concentration du soluté dans la phase solide et celle dans la phase fluide-SC à l'équilibre. L'équation de bilan développée par ce modèle à travers le lit est la suivante :

$$\frac{m_b}{m_0} = \frac{1 - m_a/m_0}{K_p \frac{\Delta m}{(V_b - V_a)\rho_f} + 1} + \frac{m_a}{m_0} \quad (4.15)$$

Sachant que :

m_a et m_b : Masses du soluté cumulée durant une consommation de volumes de fluide V_a et V_b respectivement.

4.2.6., Modèle SC (Shrinking Core)

Modèle à noyau rétrécissant (SC) est le modèle qui décrit la situation de désorption irréversible, suivie d'une diffusion dans le solide poreux. Il suppose que le soluté à l'intérieur de la particule est situé dans un noyau qui rétrécit à mesure que le soluté est extrait [198]. C'est-à-dire, il existe une sorte de frontière solide caractérisée à la limite de l'extraction par un rayon critique r_c dans la particule supposée sphérique. Autrement dit que le noyau de la région intérieure se rétrécit avec la progression de l'extraction [198].

Dans cette étude, ce modèle est choisi pour décrire l'extraction des lipides contenus dans les fruits d'olives en utilisant le CO_2 -SC comme solvant du fait de sa fiabilité confirmée dans de nombreuses études antérieures.

D'autres modèles ont été rapportés dans la littérature, décrivant l'extraction par CO₂-supercritique de différentes substances, sachant que tous sont généralement caractérisés par différentes hypothèses qui servent à minimiser la complexité de l'extraction à hautes pressions [189], [199]. Parmi ces hypothèses, on résume les plus importants :

- Fonctionnement isotherme,
- chute de pression négligeable à travers l'extracteur,
- porosité du lit et densité du solide constante le long de l'extraction.
- De plus, il est supposé généralement que la charge de soluté dans le fluide supercritique est faible et par conséquent, la densité et la vitesse du fluide restent approximativement constantes.
- Dispersion axiale négligeable.

Concernant la forme des particules et leur taille, les matrices solides sont généralement soumises à des prétraitements mécaniques tels que le fraisage, la coupe, le hachage, le concassage ou d'autres méthodes de réduction de la taille. Ces prétraitements ont plusieurs objectifs, notamment la libération de solutés des cellules, la facilité de l'écoulement du solvant à travers le lit garni, l'augmentation des charges de substrat dans les unités d'extraction et l'amélioration de la vitesse et du rendement du processus d'extraction ultérieur [89], [183], [200].

De telles hypothèses réduisent le nombre d'équations nécessaires pour décrire le processus d'extraction.

4.3. Modélisation de l'extraction de l'huile d'olive par CO₂ par le modèle de Shrinking Core

Comme indiqué ci-dessus, il existe différents modèles utilisés pour décrire l'extraction par fluides supercritiques des huiles ou d'autres composés à partir de différentes matrices. Tous considèrent que les particules sont emballées à l'intérieur d'une colonne d'extraction construisant un lit poreux. Parmi ces modèles, le modèle de Shrinking Core appelé aussi modèle du noyau rétrécissant présenté pour la première fois par Goto et al [198].

Ce modèle suppose qu'il existe une frontière mobile (Moving Boundary) entre les parties extraites et non extraites de la particule supposée de forme sphérique. Au

fur et à mesure que l'extraction se poursuit, une désorption irréversible du soluté se produit conduisant à un rétrécissement de la frontière jusqu'à ce qu'elle atteigne le centre de la particule où tout le soluté est épuisé. La position finale de cette frontière est donnée par un rayon critique r_c dans la particule sphérique comme représentée sur la figure 4.1.

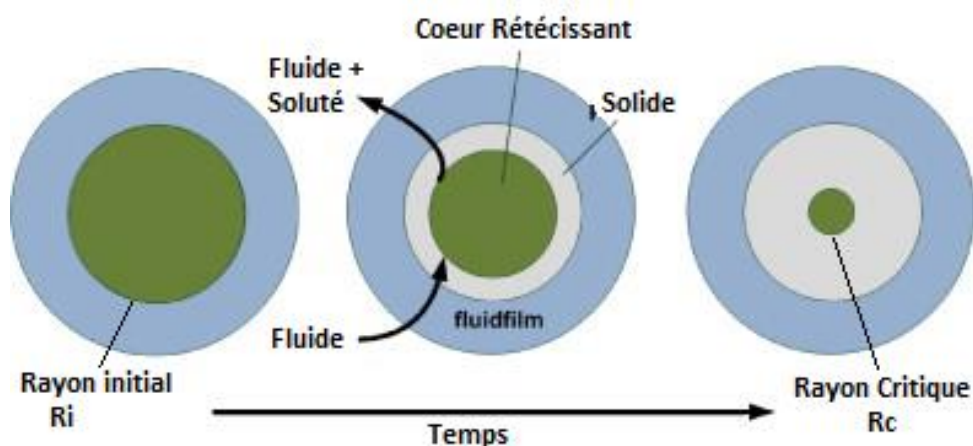


Figure 4.1 : Principe du modèle de Shrinking core.

Les hypothèses adoptées lors de l'élaboration des bilans massiques en appliquant le modèle de Shrinking Core à l'extraction de l'huile issue des fruits d'olives de la région de Constantine par le biais du CO_2 supercritique sont :

- L'extraction de l'huile est considérée comme une désorption irréversible ;
- La dispersion axiale est négligeable dans le lit.
- La pression et la température sont supposées fixes le long de l'extracteur.
- La distribution de la matière grasse à travers le lit est uniforme.
- Les propriétés physiques du fluide supercritique sont considérées constantes le long du réacteur.

Ces hypothèses sont indispensables vue la complexité d'opérer à hautes pressions et l'influence de plusieurs paramètres sur le procédé extractif tels que : la porosité du lit, la forme des particules, le débit de gaz, etc.

4.3.1. Equations du bilan

Comme mentionné auparavant, l'établissement du modèle qui décrit le processus d'extraction passe par les équations de bilan de transfert de masse à travers le lit et dans la particule.

a) Bilan massique de l'huile végétale dans le solvant

Le bilan de matière par rapport à l'extrait à travers un élément de volume de hauteur dz du lit fluidisé (Fig 4.2) est une combinaison entre la diffusion et la convection :

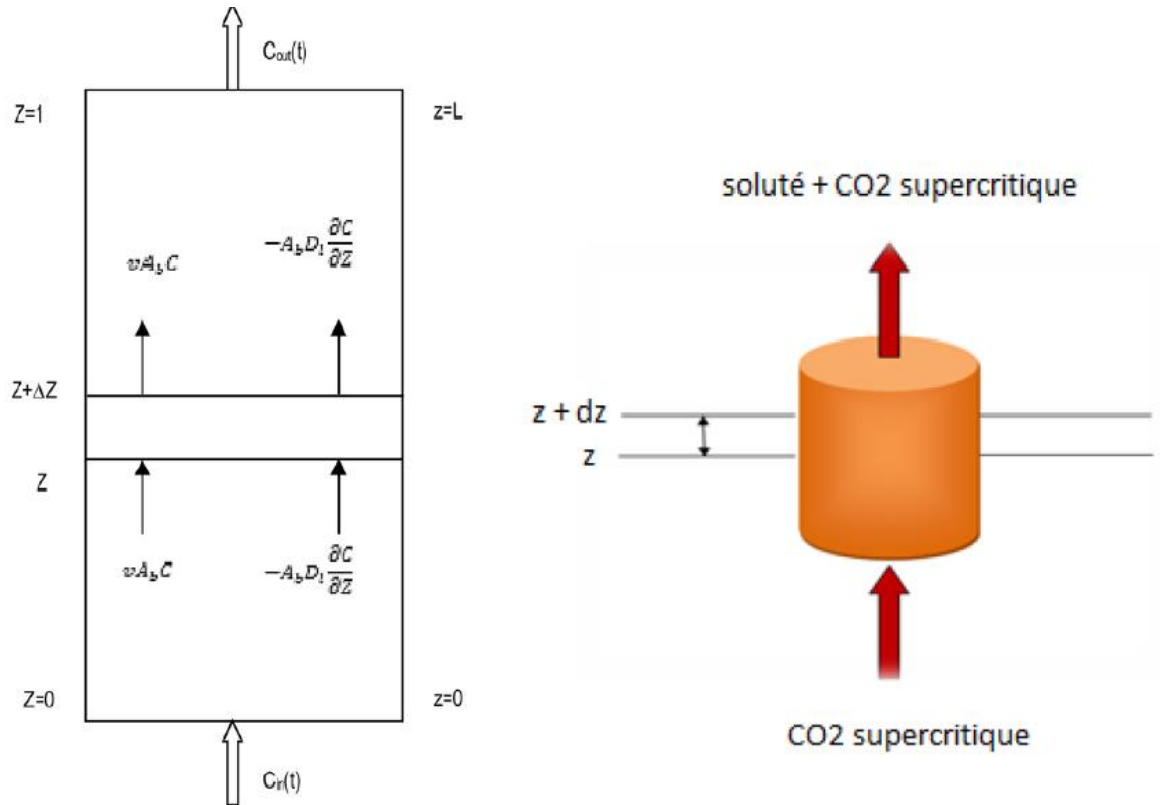


Figure 4.2 : Schéma du transfert de matière à travers un élément de volume.

En appliquant le principe de conservation de la matière, le bilan s'écrit sous la forme :

$$(Quantité\ de\ matière\ à\ l'entrée) - (Quantité\ de\ matière\ à\ la\ sortie) + (Masse\ transférée\ entre\ phases) = (Variation\ de\ la\ masse\ dans\ l'élément) \tag{4.16}$$

➤ **Transfert de matière par convection :**

- Débit de l'extrait entrant dans l'élément par convection = $(\epsilon.v.A.C)_z$
- Débit de l'extrait sortant de l'élément par convection = $(\epsilon.v.A.C)_{z+dz}$

Avec :

ϵ : Fraction du vide du lit.

v : Vitesse interstitielle du fluide supercritique [m/s].

A : Section d'écoulement [m²].

C : Concentration de l'huile végétale [kmol/m³].

➤ **Transfert de matière par diffusion :**

- Débit de l'extrait entrant dans l'élément par diffusion = $(J.\varepsilon.A)_z$
- Débit de l'extrait sortant de l'élément par diffusion = $(J.\varepsilon.A)_{z+dz}$

Avec :

J est le flux molaire diffusionnel [kmol/m² s]. Il est donné par la première loi de Fick :

$$J = -D_L \frac{\partial c}{\partial z} \quad (4.17)$$

D_L : Coefficient de diffusion de l'extrait à travers le lit [m²/s].

➤ **Transfert de matière entre phases :**

Le débit d'huile végétale transféré de la phase solide vers le CO₂ supercritique est exprimé comme suit :

$$(1 - \varepsilon).A.dz.a_p.k_f (C_i(R) - C) \quad (4.18)$$

a_p : Aire spécifique de la particule solide supposée sphérique [m⁻¹];

$$a_p = \frac{S}{V} = \frac{4.\pi R^2}{\frac{4.\pi R^3}{3}} = \frac{3}{R} \quad (4.19)$$

k_f : Coefficient de transfert de matière [m/s].

$C_i(R)$: Concentration de l'huile à la surface externe de la particule solide [kmol/m³].

R : Rayon de la particule solide [m].

➤ **Accumulation :**

La quantité de matière cumulée par unité de temps est donnée par :

$$\frac{\partial(\varepsilon.A.dz.c)}{\partial t} \quad (4.20)$$

En remplaçant chaque terme de l'équation 4.16 par son expression, nous aboutissons à l'équation suivante :

$$\left[\varepsilon.v.A.C \Big|_z \right] + \left[\varepsilon.A.J \Big|_z \right] - \left[\varepsilon.v.A.C \Big|_{z+dz} \right] - \left[\varepsilon.A.J \Big|_{z+dz} \right] + (1-\varepsilon).A.dz.a_p.k_f.(Ci(R)-C) = \frac{\partial(\varepsilon.A.dz.C)}{\partial t} \quad (4.21)$$

En divisant par $\varepsilon.A.dz$, l'équation (4.21) devient :

$$\frac{\left[v.C \Big|_z \right] - \left[v.C \Big|_{z+dz} \right]}{dz} + \frac{\left[J \Big|_z \right] - \left[J \Big|_{z+dz} \right]}{dz} + \left(\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \left(\frac{3}{R} \right) k_f.(Ci(R)-C) = \frac{\partial C}{\partial t} \quad (4.22)$$

Si dz tend vers 0, l'expression précédente devient :

$$-\frac{v.\partial C}{\partial z} - \frac{\partial J}{\partial z} + \left(\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \left(\frac{3}{R} \right) k_f.(Ci(R)-C) = \frac{\partial C}{\partial t} \quad (4.23)$$

Sachant que :

$$\frac{\partial J}{\partial z} = \frac{\partial \left(-D_L \cdot \frac{\partial C}{\partial z} \right)}{\partial z} = -D_L \cdot \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \quad (4.24)$$

L'équation (4.23) s'écrit comme suit :

$$\frac{v.\partial C}{\partial z} - D_L \cdot \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} - \left(\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \left(\frac{3}{R} \right) k_f.(Ci(R)-C) = -\frac{\partial C}{\partial t} \quad (4.25)$$

b) Bilan massique de l'huile végétale dans la particule solide

En réalité, le comportement et l'évolution du transfert de matière à travers la particule est complexe. Le transfert de l'huile d'olive au cours de l'extraction par CO₂ supercritique dans les particules solides se fait uniquement par diffusion à travers la particule solide poreuse.

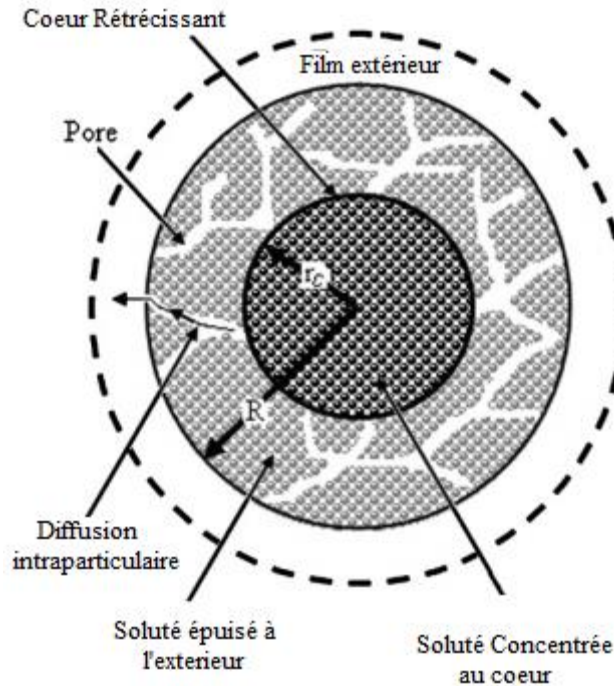


Figure 4.3 : Élément différentiel de la particule sphérique.

Le bilan de matière à travers l'élément de volume différentiel dV (figure 4.3) s'écrit :

$$\left(\text{Quantité de matière entrant l'élément par diffusion} \right) - \left(\text{Quantité de matière sortant l'élément par diffusion} \right) = \left(\text{Variation de la quantité de matière dans l'élément} \right) \quad (4.26)$$

Dont :

- Le débit de l'huile entrant dans dV par diffusion est égal à $[N_i \cdot 4 \cdot \pi \cdot r^2]_r$,
- Le débit de l'huile sortant de dV par diffusion est $[N_i \cdot 4 \cdot \pi \cdot r^2]_{r+dr}$

N_i étant le flux molaire du soluté i (huile) dans les pores $[\text{kmol}/\text{m}^2 \text{ s}]$.

- L'accumulation est exprimée par $4 \cdot \pi \cdot r^2 \cdot dr \cdot \frac{\partial C_i(r)}{\partial t}$

L'expression du bilan massique à travers l'élément différentiel d'épaisseur dr devient :

$$[N_i \cdot 4 \cdot \pi \cdot r^2]_r - [N_i \cdot 4 \cdot \pi \cdot r^2]_{r+dr} = 4 \cdot \pi \cdot r^2 \cdot dr \cdot \frac{\partial C_i(r)}{\partial t} \quad (4.27)$$

La division de cette équation par « $4\pi r^2 dr$ » donne :

$$-\frac{1}{r^2} \cdot \frac{\partial N_i \cdot r^2}{\partial r} = \frac{\partial C_i(r)}{\partial t} \quad (4.28)$$

En substituant N_i par sa formule, l'équation de bilan devient :

$$N_A = -D_e \frac{\partial C_i(r)}{\partial r} \quad (4.29)$$

$$-\frac{1}{r^2} \cdot \left[\frac{\partial}{\partial r} \left(-D_e \frac{\partial C_i(r) \cdot r^2}{\partial r} \right) \right] = \frac{\partial C_i(r)}{\partial t} \quad (4.30)$$

D_e étant le coefficient de diffusion effectif [m^2/s].

En régime permanent, l'équation 4.30 se réduit à :

$$\frac{D_e}{r^2} \cdot \frac{\partial}{\partial r} \left(\frac{\partial C_i(r) \cdot r^2}{\partial r} \right) = 0 \quad (4.31)$$

4.3.2. Résolution numérique

En appliquant les hypothèses appropriées au modèle Shrinking Core citées dans la section précédente, l'équation du bilan massique dans l'extracteur prend donc la forme suivante :

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{V \cdot \partial C}{\partial z} = \left(\frac{1 - \varepsilon}{\varepsilon} \right) \left(\frac{3k_f}{R} \right) \cdot (C_i(R) - C) \quad (4.32)$$

L'écriture de la variation moyenne de la concentration de l'huile végétale dans la phase solide (\bar{q}) par rapport au temps est donnée par l'équation (4.33). Elle est donc égale au taux de transfert de matière du soluté dans le film externe entourant la particule.

$$\frac{\partial(\bar{q})}{\partial t} = \frac{3k_f}{R} [C - C_i(R)] \quad (4.33)$$

D'autre part, la concentration moyenne en huile dans la phase solide peut être exprimée en fonction du diamètre des particules comme suit :

$$\frac{\bar{q}}{q_0} = \left(\frac{r_c}{R} \right)^3 \quad (4.35)$$

a) Conditions initiales et aux limites

- Les conditions aux limites sont :
 - À la limite du processus, la concentration dans la phase liquide au voisinage immédiat de la phase solide est égale à la valeur de la concentration de saturation.

Au point $r=r_c$, $C_i=C_{sat}$.

- Le flux de diffusion sur la surface externe d'une particule est égal au transfert de matière à travers le film externe :

$$-D_e \frac{\partial C_i}{\partial r} = k_f [C_i(R) - C] \quad (4.35)$$

- Les deux conditions aux limites de Danckwert [1] à l'entrée et à la sortie du lit sont les suivants :

$$\left\{ \begin{array}{l} z=0, C=0 \end{array} \right. \quad (4.36a)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} z=L, \frac{\partial C}{\partial Z} = 0 \end{array} \right. \quad (4.36b)$$

- Les conditions initiales sont données comme suit :

$$\left\{ \begin{array}{l} t=0, r_c=R \end{array} \right. \quad (4.37a)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} t=0, C=0 \end{array} \right. \quad (4.37b)$$

Pour réduire le nombre de variables influençant le transfert de matière de l'extrait dans la phase supercritique, nous procédons à l'adimensionnalisation des équations des bilans et des conditions initiales et aux limites en introduisant des variables adimensionnelles bien choisies. Ceci facilite leur résolution numérique.

b) Variables adimensionnelles

$$x = \frac{C}{C_{sat}}, x_i = \frac{C_i}{C_{sat}}, y = \frac{r}{R}, Z = \frac{z}{L}, a = \frac{vR^2}{D_e L}, \theta = \left(\frac{D_e}{R^2} \right) t, \bar{y} = \frac{\bar{q}}{q_0}, b = \frac{C_{sat}}{q_0}, Bi = \frac{k_f}{D_e} \quad (4.38)$$

La substitution des variables adimensionnelles dans les équations (4.32), (4.33) et (4.34) donnent:

$$\frac{\partial x}{\partial \theta} + a \frac{\partial x}{\partial Z} = \left(\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) (3Bi) \cdot (x_i(1) - x) \quad (4.39)$$

$$\frac{\partial \bar{y}}{\partial \theta} = 3Bib[x - x_i(1)] \quad (4.40)$$

$$\frac{1}{y^2} \cdot \frac{\partial}{\partial y} \left(y^2 \frac{\partial x_i}{\partial y} \right) = 0 \quad (4.41)$$

$$\begin{aligned}
x_i &= 1, y = y_c, \left(\frac{\partial x_i}{\partial y} \right)_{y=1} = Bi[x - x_i(1)] \\
\bar{y} &= y_c^3 \\
\theta = 0 &\rightarrow y_c = 1 \\
\theta = 0 &\rightarrow x = 0 \\
Z = 0 &\rightarrow x = 0 \\
Z = 1 &\rightarrow \frac{\partial x}{\partial Z} = 0
\end{aligned} \tag{4.42}$$

Les équations de bilan adimensionnelles sont :

$$\frac{\partial x}{\partial \theta} + a \frac{\partial x}{\partial Z} = - \left(\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \right) \frac{(3Bi).(x-1)}{1 - Bi \left(1 - \frac{1}{y_c} \right)} \tag{4.43}$$

$$\frac{\partial \bar{y}}{\partial \theta} = \frac{bBi[x-1]}{y^2 \left[1 - Bi \left(1 - \frac{1}{y_c} \right) \right]} \tag{4.44}$$

Le calcul du rendement R pendant un temps θ peut se faire par la relation :

$$R = \frac{a.\varepsilon.b}{1-\varepsilon} \int_0^\theta x d\theta \tag{4.45}$$

c) [Résolution numérique par la méthode des différences finies :](#)

Afin de résoudre le système d'équations obtenu, on fait appel à la méthode des différences finies qui est basée sur la discrétisation des équations différentielles :

$$\frac{\partial x}{\partial \theta} + a \frac{\partial x}{\partial z} = - \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \frac{(3Bi).(x-1)}{1 - Bi \left(1 - \frac{1}{y_c} \right)} \tag{4.46}$$

$$\frac{\partial x}{\partial \theta} = \frac{x_{i,j} - x_{i,j-1}}{\Delta \theta} \tag{4.46a}$$

$$\frac{\partial x}{\partial z} = \frac{x_{i,j} - x_{i-1,j}}{\Delta z} \tag{4.46b}$$

La substitution des équations (4.46a) et (4.46b) dans l'équation (4.46) donne :

$$\frac{x_{i,j} - x_{i,j-1}}{\Delta\theta} + a \frac{x_{i,j} - x_{i-1,j}}{\Delta z} = \frac{\varepsilon - 1}{\varepsilon} \frac{(3Bi).(x_{i,j} - 1)}{1 - Bi \left(1 - \frac{1}{y_{i,j}}\right)} \quad (4.47)$$

Après arrangement, le système devient :

$$\left(\frac{1}{\Delta\theta} + \frac{a}{\Delta z}\right)x_{i,j} - \frac{\varepsilon - 1}{\varepsilon} \frac{(3Bi).(x_{i,j} - 1)}{1 - Bi \left(1 - \frac{1}{y_{i,j}}\right)} - \frac{x_{i,j-1}}{\Delta\theta} - \frac{a.x_{i-1,j}}{\Delta z} = 0 \quad (4.48)$$

En multipliant l'équation (4.48) par $\Delta\theta$, nous obtenons :

$$\left(1 + \frac{a.\Delta\theta}{\Delta z}\right)x_{i,j} - \frac{\varepsilon - 1}{\varepsilon} \frac{(3Bi\Delta\theta).(x_{i,j} - 1)}{1 - Bi \left(1 - \frac{1}{y_{i,j}}\right)} - \frac{a.\Delta\theta}{\Delta z} x_{i-1,j} - x_{i,j-1} = 0 \quad (4.49)$$

$$\frac{\partial y_c}{\partial \theta} = \frac{bBi.(x-1)}{y_c^2 \left(1 - Bi \left(1 - \frac{1}{y_c}\right)\right)} \quad (4.50)$$

Sachant que :

$$\frac{\partial y}{\partial \theta} = \frac{y_{i,j} - y_{i,j-1}}{\Delta\theta} \quad (4.50a)$$

Par substitution on aura :

$$\frac{y_{i,j} - y_{i,j-1}}{\Delta\theta} = \frac{bBi.(x_{i,j} - 1)}{y_{i,j}^2 \left(1 - Bi \left(1 - \frac{1}{y_{i,j}}\right)\right)} \quad (4.51)$$

À partir de l'équation (4.51) et après réarrangement on peut écrire :

$$x_{i,j} = 1 + \frac{y_{i,j}^2 \left(1 - Bi \left(1 - \frac{1}{y_{i,j}}\right)\right) (y_{i,j} - y_{i,j-1})}{bBi\Delta\theta} \quad (4.52)$$

En remplaçant l'équation (4.52) dans (4.49), ça résulte l'équation (4.53) comme suit :

$$\left(1 + \frac{a\Delta\theta}{\Delta z}\right) \left(1 + \frac{y_{i,j}^2 \left(1 - Bi \left(1 - \frac{1}{y_{i,j}}\right)\right) (y_{i,j} - y_{i,j-1})}{bBi\Delta\theta}\right) - \frac{\varepsilon - 1}{\varepsilon} \frac{3Bi\Delta\theta \left[\frac{y_{i,j}^2 \left(1 - Bi \left(1 - \frac{1}{y_{i,j}}\right)\right) (y_{i,j} - y_{i,j-1})}{bBi\Delta\theta} \right]}{1 - Bi \left(1 - \frac{1}{y_{i,j}}\right)} - \frac{a\Delta\theta}{\Delta z} x_{i-1,j} - x_{i,j-1} = 0 \quad (4.53)$$

La résolution de cette équation permet d'avoir la valeur de (y). Sa substitution dans l'équation (4.52) donne la valeur de (x). Le rendement est calculé par simple intégration.

Cette résolution est faite par le biais d'un programme développé dans le logiciel MATHCAD 14.0. Ce dernier contient un paramètre ajustable qui est le Coefficient de Diffusion (D_e).

Lors du broyage des fruits d'olives, la matrice obtenue présente un aspect pâteux. C'est le cas dans plusieurs matrices riche en matière grasse telles que l'arachide, le tournesol, le sésame, les noix, etc...Ceci nous a empêché de déterminer le diamètre moyen des particules. Par conséquent, le diamètre des particules d_p est pris pour la première fois comme deuxième paramètre ajustable.

Le critère d'arrêt adopté dans chaque expérience caractérisée par ses propres conditions opératoires (pression, température et temps), est fixé de telle sorte que l'écart moyen absolu (AAD (%)) des rendements obtenus soit minimal selon la relation suivante :

$$AAD(\%) = \frac{1}{NP} \sum_{i=1}^{NP} \left(\frac{|R_{exp} - R_{cal}|}{R_{exp}} \right) \times 100 \quad (4.54)$$

Avec NP le nombre de points expérimentaux.

4.3.3. Estimation des propriétés physico-chimiques du CO₂-SC et des paramètres de transfert de matière

Afin de résoudre le modèle établi précédemment, l'estimation des propriétés physico-chimiques telles que ; la viscosité dynamique du fluide (μ), la masse volumique du fluide (ρ) et des paramètres de transfert de masse à savoir le coefficient de transfert de matière (K_f) et la concentration à la saturation (C_{sat}), s'avère indispensable.

a) Viscosité

Basé sur le comportement du CO₂ supercritique au voisinage du point critique, ce fluide présente une faible viscosité comme celle des gaz. Elle peut être estimée par la corrélation empirique de Jossi et al [201] :

$$[(\mu - \mu^*)\xi^* + 1]^{1/4} = 1.0230 + 0.23364\rho_r + 0.8533\rho_r^2 - 0.40758\rho_r^3 + 0.093324\rho_r^4 \quad (4.55)$$

$$\xi^* = \frac{T_c^{1/6}}{p^{2/3} M^{1/2}} [\mu P]^{-1} \quad (4.56)$$

Au point critique : $T_c = 304.95$ K. $P_c = 73.8$ bar.

L'équation (4.55) est applicable dans un intervalle de masse volumique réduit compris entre 0.1 et 3.

μ^* : Représente la viscosité du CO₂ à basse pression (entre 0.1-5 bar). Elle est calculée à partir des formules ci-dessous [7] :

$$\xi^* \mu^* = 34.0 * 10^{-7} T_r^{0.94} \quad \text{pour } T_r \leq 1.50 \quad (4.57a)$$

$$\xi^* \mu^* = 17.78 * 10^{-5} (4.58 T_r - 1.67)^{5/8} \quad \text{pour } T_r > 1.50 \quad (4.57b)$$

T_r : Température réduite

μ : viscosité du CO₂-SC, [μP]

μ^* : Viscosité du gaz a basse pression [μP].

ρ_r : Masse volumique réduite du CO₂-SC, $\frac{\rho}{\rho_c}$.

M : Masse moléculaire du CO₂, [g/mol].

b) Masse volumique de CO₂ supercritique

La masse volumique du CO₂ à son état supercritique est une fonction de la température et de la pression caractéristiques pour chaque expérience aboutie. Ce calcul peut se faire en faisant appel à un logiciel noté *DIAGSIM* [202].

c) Calcul du coefficient de transfert de matière

Le coefficient de transfert de matière dépend de plusieurs paramètres représentés par les nombres adimensionnels de Sherwood (Sh), de Reynolds (Re) et de Schmidt (Sc) qui doivent être calculés [203]:

$$k_f = \frac{shD_e}{2R} \quad (4.58)$$

Le nombre de Sherwood $sh = 0.38 Re^{0.83} Sc^{1/3} \quad (4.59)$

Le nombre de Reynolds $Re = \frac{\rho_f U_0 2R}{\mu_f} \quad (4.60)$

Le nombre de Schmidt $Sc = \frac{\mu_f}{D_e \rho_f} \quad (4.61)$

Avec :

R : Rayon des particules exprimé en [m].

ρ_f, μ_f : Sont la masse volumique et la viscosité dynamique du fluide supercritique exprimées en [kg/m³] et en [kg/m.s] respectivement.

U_0 : Vitesse superficielle du fluide supercritique calculé par $U_0 = \frac{4.Q}{\pi \rho D^2}$; en [m/s].

d) Calcul de la concentration de saturation

La détermination de cette grandeur est déduite de l'équation (4.62) de Del Valle et al [203]. Ils ont exprimé la concentration de saturation d'un soluté dans le fluide supercritique par une relation entre trois facteurs. Le premier terme représente la solubilité à saturation dans un état de référence (C_{sat}^0). Tandis-que le deuxième est un facteur de correction de la densité du CO₂ (masse volumique de référence ρ_0) associé à la densité K (nombre de molécules de CO₂ qui se combinent avec une seule molécule d'huile pour former un solvant complexe). Le dernier terme est une combinaison entre un facteur de correction de la température absolue (Température de référence absolue T_0) et d'une chaleur totale dépendant de l'enthalpie ΔH (chaleur de vaporisation plus la chaleur de dissolution dans le CO₂) requise pour synthétiser le solvant complexe.

Cette équation (4.61) est appliquée en tenant compte des conditions de références qui sont fixées comme suit : $T_0 = 313$ K et $P_0 = 300$ bar, dans lesquelles la masse volumique approximative du CO_2 supercritique est : $\rho_0 = 910$ kg /m³.

$$\log(C_{sat}) = \log(C_{sat}^0) + (K-1) \log\left(\frac{\rho}{\rho_0}\right) - \frac{\Delta H}{2.303R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0}\right) \quad (4.62)$$

Avec :

$$C_{sat}^0 = 8.07 g_{huile} / kg_{CO_2} \quad (4.62a)$$

$$K = 10.59 - 8.45 \left(\frac{\rho}{910} - 1\right) - 23.0 \left(\frac{\rho}{910} - 1\right)^2 \quad (4.62b)$$

$$\Delta H = 9630R \left[1 - 259 \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{313}\right)\right] \quad (4.62c)$$

La concentration à la saturation du soluté dans le CO_2 supercritique dépend uniquement des conditions opératoires. Elle est indépendante de la nature des substrats en question.

4.3.4. Organigramme

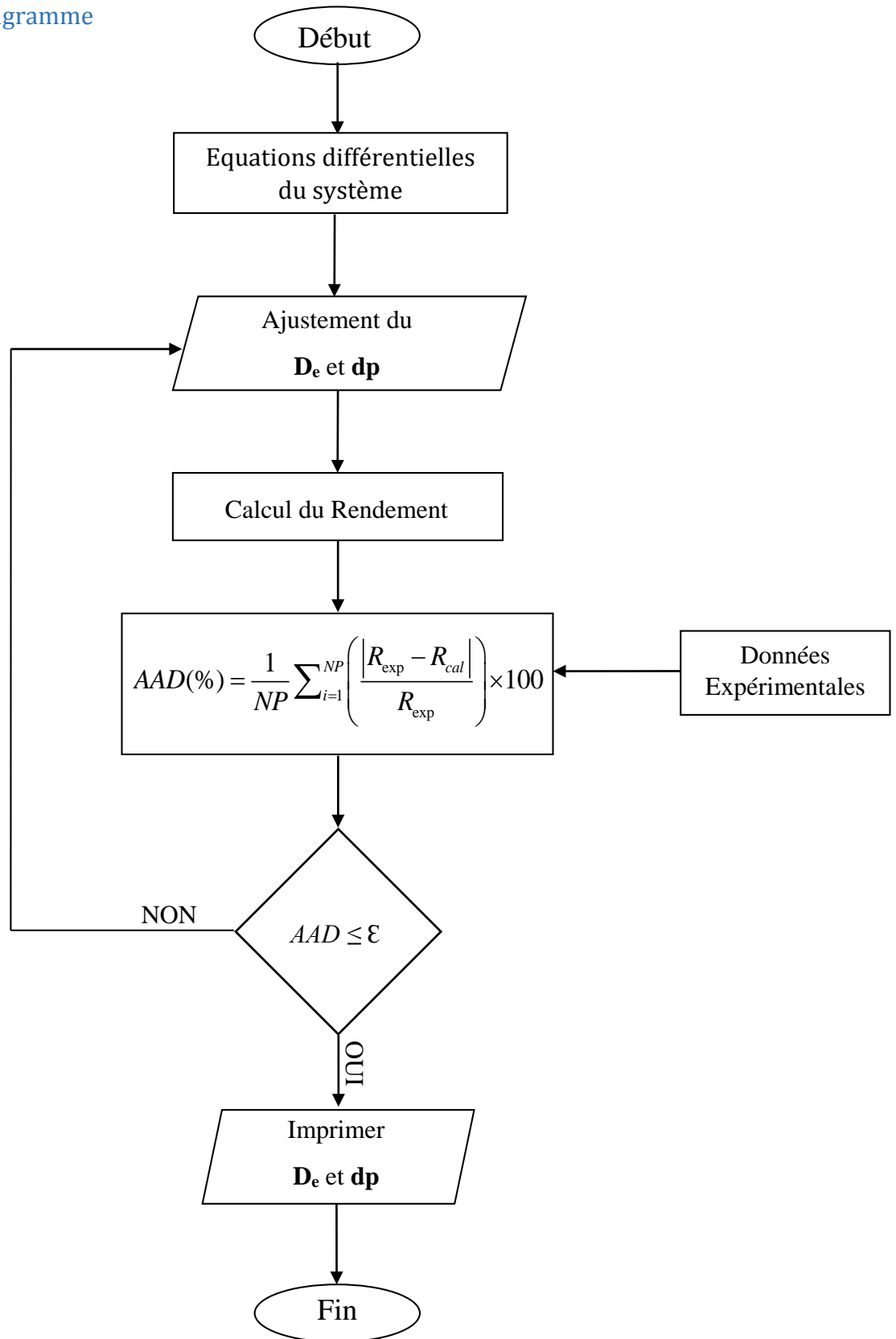


Figure 4.4 : Organigramme du programme de calcul.

4.3.5. Résultats et discussions

Cette section du chapitre regroupe les résultats issus de la modélisation du rendement de l'extraction des lipides contenus dans les fruits d'olive, par le biais du CO₂ supercritique en utilisant le modèle de Shrinking Core.

Tableau 4.1: Propriétés et paramètres estimés en fonction des conditions expérimentales.

Conditions opératoires			Propriétés physiques		Paramètres de transfert	
P(Bar)	T(°C)	t (min)	ρ_f (kg/m ³)	μ (kg.m/s) $\times 10^5$	U (m/s) $\times 10^4$	C_{sat}^* (kmol/m ³)
200	40	105	800.932	5.30176	1.673	0.03956
300	40	105	893.6	6.76706	1.499	0.13728
200	60	105	673.762	3.80993	1.988	0.03965
300	60	105	803.47	5.33638	1.321	0.028546
200	50	180	738.466	4.51756	1.814	0.04126
300	50	180	848.6	5.99676	1.579	0.020472
250	40	180	853.722	6.07964	1.569	0.08254
250	60	180	749.204	4.64416	1.788	0.12734
250	50	105	802.1	5.31769	1.67	0.10687

* C_{sat} est estimée à partir de la relation de del valle (Eq 4.62).

Ces résultats ont permis d'exécuter le programme sur le logiciel Mathcad.

Sachant que :

- Débit du CO₂ = 0.833×10^{-3} Kg/s
- Porosité moyenne (ϵ) = 0,472.

Les valeurs du rendement d'extraction ainsi que les paramètres ajustés (D_e et d_p) sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau 4.2 : Résultats de la modélisation.

P(Bar)	T(°C)	t (min)	d_p (mm)	D_e (m ² /s)	K_f (m/s) $\times 10^7$	R_{mod} (%)
200	40	105	0.276	4.4E-12	1.109	18.00
300	40	105	0.676	2.4E-12	0.543	18.80
200	60	105	0.663	1.12E-12	0.479	10.30
300	60	105	0.365	0.968E-12	0.3162	26.00
200	50	180	0.190	2.28E-12	0.848	21.05
300	50	180	0.570	4.21E-11	4.076	24.60
250	40	180	0.540	2.12E-11	2.581	30.20
250	60	180	0.340	1.08E-11	2.127	28.10
250	50	105	0.340	0.96E-11	1.797	15.70

Ce tableau montre que les valeurs du diamètre des particules d_p varient entre 0.19 mm et 0.676 mm, le coefficient de diffusion effectif D_e est compris entre $0.968E^{-12}$ m²/s et $4.21E^{-11}$ m²/s. La comparaison entre les rendements obtenus par le modèle de Shrinking Core et ceux trouvés expérimentalement a permis de valider les résultats de la modélisation (tableau 4.3).

Tableau 4.3 : Rendements de l'extraction de l'huile d'olives par CO₂-SC.

R_{exp} (%)	R_{mod} (%)	AD (%)	AAD (%)
20.14	18.00	10.625627	2.72191582
18.82	18.80	0.106269	
10.31	10.30	0.096993	
25.77	26.00	0.892511	
21.04	21.05	0.047528	
24.12	24.60	1.990049	
29.01	30.20	4.102033	
26.87	28.10	4.577595	
16.03	15.70	2.058640	

Du tableau 4.3, il apparaît clairement que les rendements de l'extraction de l'huile d'olives par CO₂ supercritique sont en bon accord. Ceci est confirmé par le faible taux de déviation moyenne (AAD (%) < 3%).

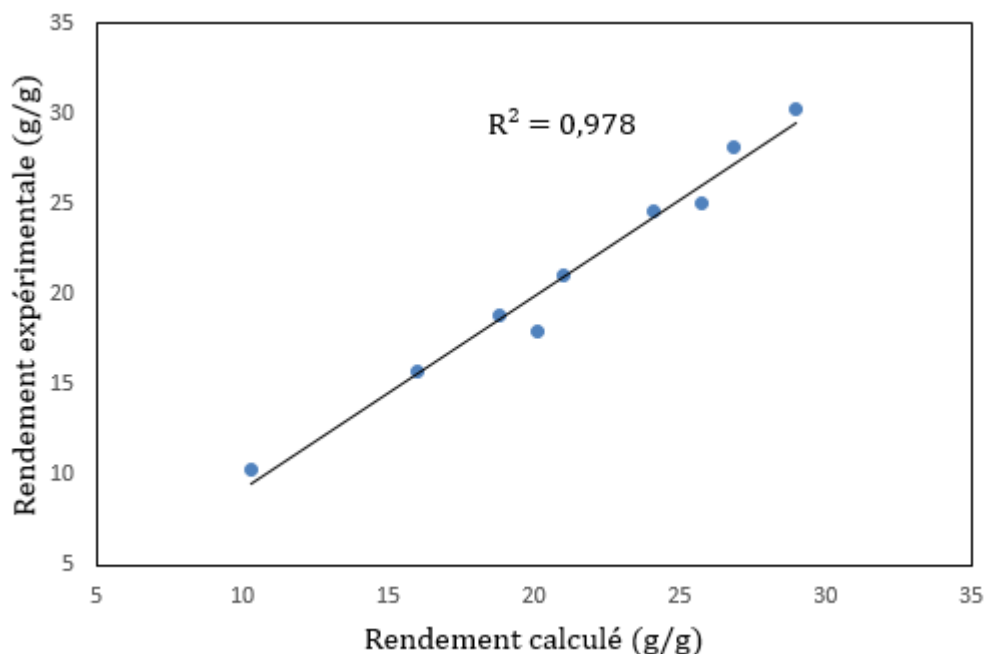
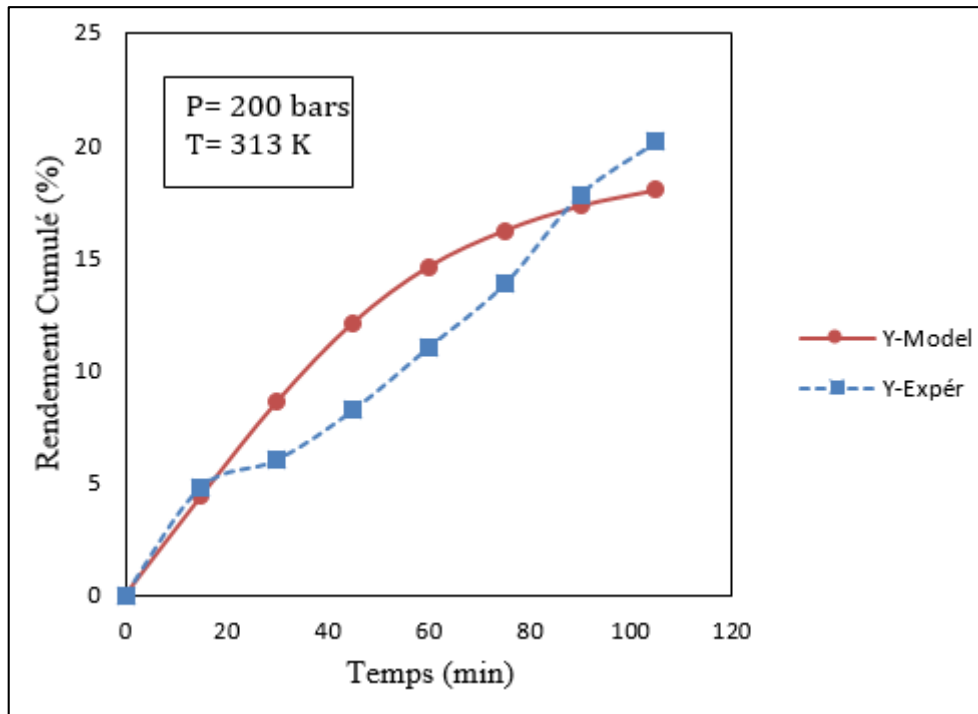


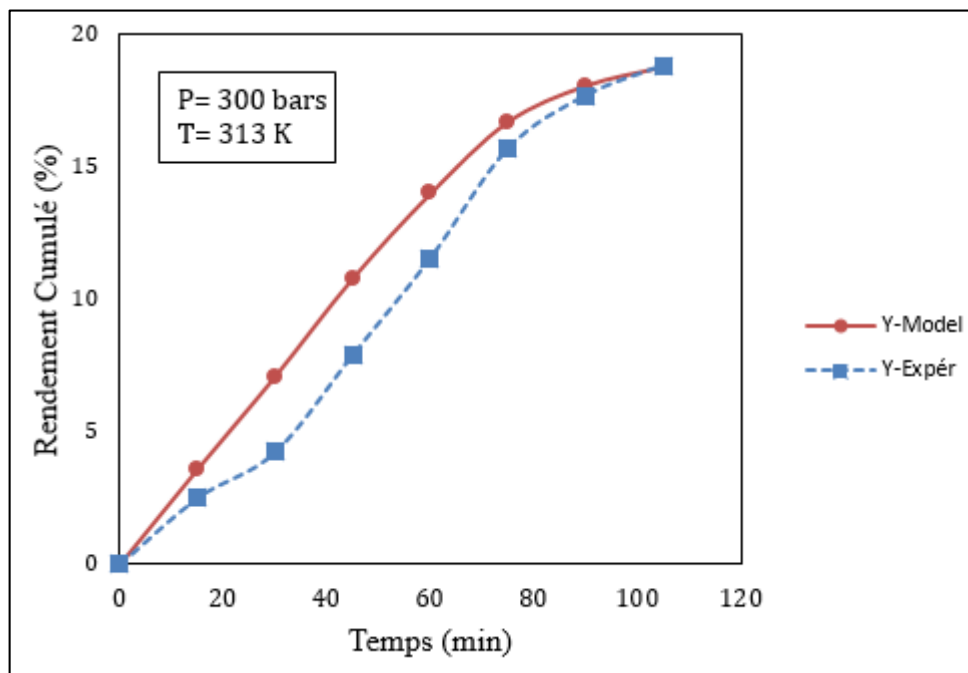
Figure 4.5 : Comparaison entre les résultats obtenus expérimentalement et numériquement.

Les valeurs illustrant le rendement (fig 4.5) sont très proches de la première bissectrice ($R^2 = 98\%$). Donc, on peut conclure que le modèle de Shrinking Core modifié décrit parfaitement l'extraction des lipides par voie supercritique.

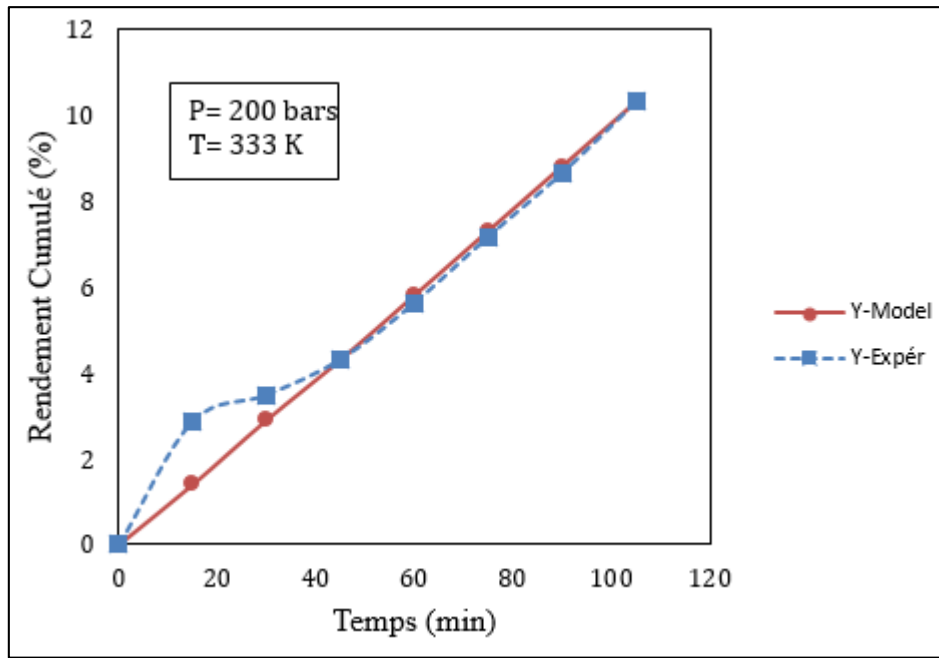
Les résultats de la modélisation ont permis de tracer pour chaque expérience la courbe de la cinétique, qui décrit le changement dans l'accumulation en matière grasse exprimée en (mg d'huile/g de matière végétale) en fonction du temps, en faisant comparaison avec les valeurs trouvées par voie expérimentale comme montré dans les figures qui suivent.



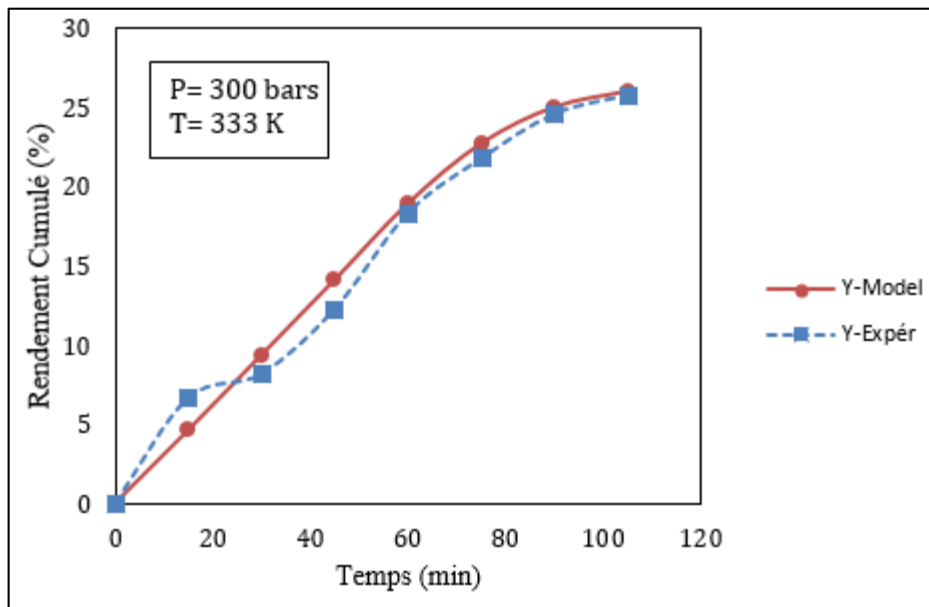
a)



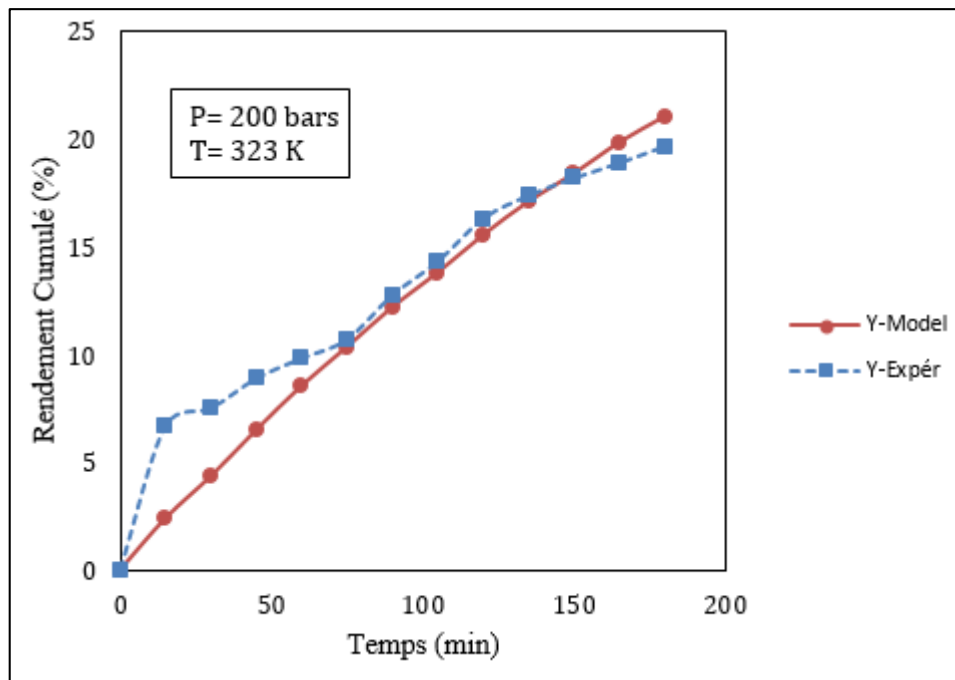
b)



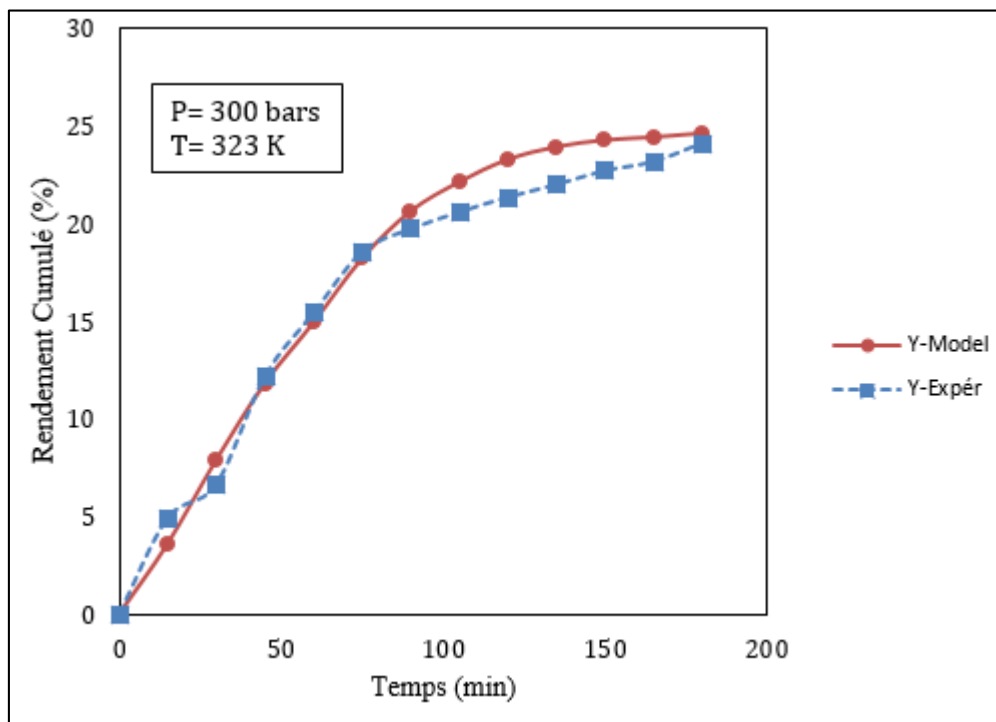
c)



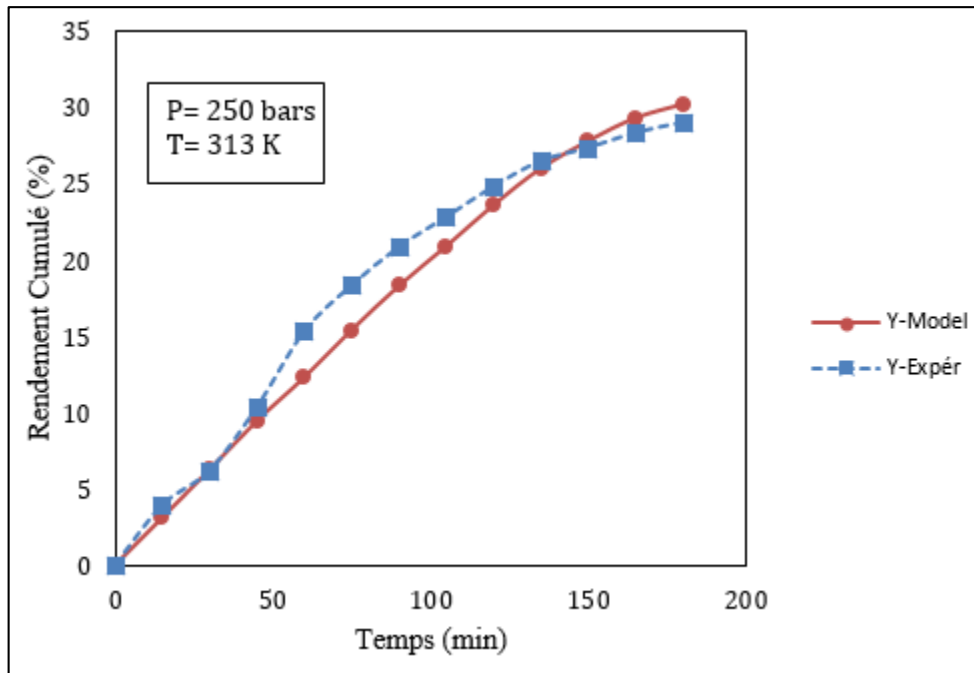
d)



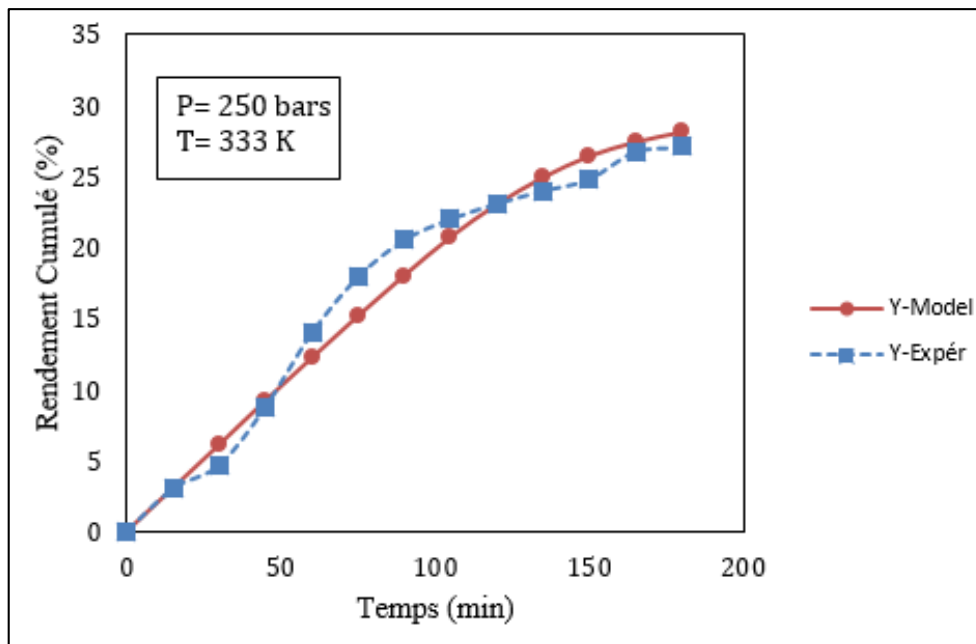
e)



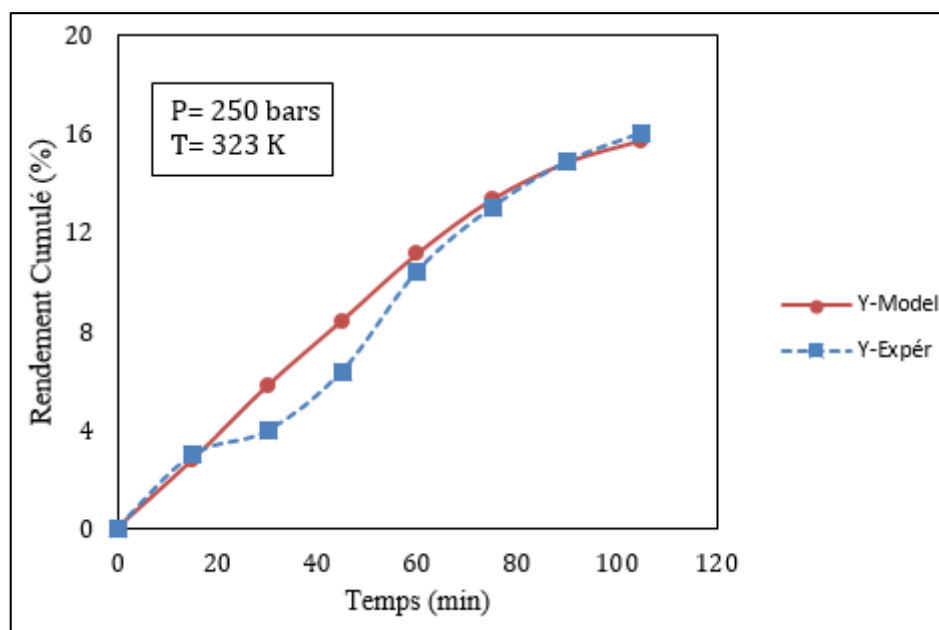
f)



g)



h)



i)

Figures 4.6 : Comparaison entre les rendements prédits et expérimentaux en fonction du temps à différentes conditions opératoires.

Ces graphes montrent que les rendements expérimentaux et prédits évoluent avec une même cinétique. Une première phase où le transfert de masse convectif est prédominant. Elle est caractérisée par une augmentation rapide de la quantité d'huile cumulée. Ceci peut être expliqué par la disponibilité du soluté à la surface des pores de la matrice solide. Dans la deuxième phase, le processus extractif est diffusif, la variation du rendement est faible ce qui confirme l'épuisement de la matière grasse dans le solide.

D'autre part, ces résultats confirment aussi l'effet des paramètres opératoires sur le rendement de l'extraction des lipides par fluide supercritique. L'augmentation ou la diminution de la température et/ou de la pression influe sur les propriétés physiques (ρ , μ) ce qui limite la capacité de transport du soluté, impliquant le changement du pouvoir solvant du fluide supercritique.

De la variation de la pression de 200 bars à 300 bars et à 40 °C résultent un faible taux d'huile extraite par CO₂-SC. En augmentant la température de 10 °C, le rendement de l'extraction des lipides change significativement de 16.33 à 22%.

Afin d'éviter toutes dégradations des molécules lipidiques extraites, la température maximale fixée est de 60 °C. A cette dernière, les rendements obtenus

sont multipliés approximativement par un facteur de 2 ou 2.5 en variant la pression de 200 à 300 bars (10%, 20% et 26% à 200, 250 et 300 bars respectivement).

Ces résultats obtenus en considérant une période d'extraction de 105 min sont améliorés en prolongeant le temps d'extraction à 180 min.

Similairement à l'effet de la pression sur le taux d'extraction, le changement de la température entraîne une variation du rendement. À faible pression (200bars), la quantité extraite diminue en augmentant la température. À une pression de 250 bars, entre 40 et 50 °C le rendement diminue en augmentant la température. Au-delà de 50°C, le rendement évolue avec l'accroissement de la température. Pour une pression avoisinant 300 bars, le rendement est proportionnel à l'augmentation de la température.

4.4. Conclusion

Le présent chapitre a permis de prédire les rendements issus de la partie expérimentale lors de l'extraction de l'huile d'olive par CO₂-SC. Les résultats obtenus à différentes conditions ont confirmé la fiabilité de l'approche adoptée par le modèle de Shrinking Core modifié en faisant intervenir le diamètre des particules comme deuxième paramètre ajustable (le premier étant le coefficient de diffusion effectif D_e). Cette modification est applicable aux systèmes riches en matière grasse présentant un aspect pâteux lors du broyage où la détermination du diamètre des particules est difficile.

CONCLUSION GÉNÉRALE

CONCLUSION GENERALE

Les corps gras sont présents dans différentes sources animales et végétales. Leurs emplois dans le domaine alimentaire et pharmaceutique sont connus et très répandus pour leurs rôles spécifiques et essentiels dans l'organisme.

Les lipides sont une source d'énergie, composants clés des membranes cellulaires, agents de transport des vitamines telles que : vit A, D, E, K et permettant la synthèse de certaines hormones (œstrogènes, cortisol,...etc.).

Dans cette étude nous nous sommes intéressés dans un premier temps à l'extraction des lipides de deux sources différentes : une de nature animale, le sérum déduit du sang humain par centrifugation, puis soumis à une extraction liquide-liquide par solvant. L'autre source de nature végétale a permis d'avoir l'huile d'olive de la région de Constantine. Il s'agit d'une extraction solide-liquide par CO₂ supercritique. Puis les extraits sont analysés par CPG et les sous-produits valorisés à travers leurs utilisations en tant qu'adsorbant de polluants ou comme anti-inflammatoire.

Le travail est initié par l'extraction des lipides des systèmes de source animale où beaucoup de problèmes sont soulevés et non interprétés dus à la complexité de ces derniers.

Les résultats obtenus dans cette première partie ont permis de déterminer les effets des différents paramètres influençant l'extraction par CO₂-SC à savoir la pression, la température, le temps, leurs interactions mutuelles par le biais des plans d'expériences en utilisant le plan Box-Behnken et en spécifiant les conditions opératoires optimales (300 bars, 60 °C et 180 min) conduisant au meilleur rendement en matières grasses (33%).

L'utilisation d'olives broyées a nettement amélioré le taux d'extraction qui augmente avec l'accroissement de la pression et du temps contrairement à la température. Ceci apparaît clairement dans le modèle quadratique résultant.

L'analyse des extraits par CPG a montré que l'huile d'olives est composée majoritairement d'acide oléique (59%), linoléique (13%).

La morphologie des échantillons solides visualisée par MEB montre la présence de pores remplis de soluté avant extraction et qui deviennent vides une fois le procédé terminé.

Certains extraits contiennent une fraction pâteuse non-huileuse (cire) clairement détectée après stockage des échantillons à températures inférieures ou égale à 5°C. Des tests préliminaires antimicrobiens et anti-inflammatoires sur la cire sont menés. Les résultats sont très prometteurs et peuvent être approfondis.

Le résidu brut de l'extraction est testé comme adsorbant de polluants organique et pharmaceutique le bleu de méthylène et le paracétamol respectivement. Il a montré un pouvoir adsorbant très important comparativement au charbon actif, au mac du café et à la bentonite.

Ce travail expérimental est achevé par une modélisation du procédé d'extraction à haute pression par le modèle de Shrinking Core modifié en introduisant le diamètre des particules comme deuxième paramètre ajustable après le coefficient de diffusion. Les rendements prédits par ce modèle sont trouvés en bon accord avec ceux obtenus expérimentalement.

Ce travail peut être complété par une étude approfondie des extraits d'origine animale dont le comportement est complexe et nécessite des connaissances en biologie. Pour ce qui est des systèmes végétaux, des tests et des analyses complémentaires sont recommandés pour valoriser les extraits et les sous-produits de l'extraction supercritique de l'huile d'olives en formulant de nouveaux produits à usage cosmétique ou pharmaceutique. D'autre part, le modèle de Shrinking Core considère une forme sphérique des particules. Par conséquent, il serait plus précis de réajuster les équations de ce modèle pour prendre en charge d'autres formes géométriques, par exemple cubique ou parallépipédique ou carrément être indépendant de la forme des particules.

BIBLIOGRAPHIES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] F. Chemat *et al.*, "Review of alternative solvents for green extraction of food and natural products: Panorama, principles, applications and prospects," *Molecules*, vol. 24, no. 16, 2019.
- [2] S. P. Jeevan Kumar, G. Vijay Kumar, A. Dash, P. Scholz, and R. Banerjee, "Sustainable green solvents and techniques for lipid extraction from microalgae: A review," *Algal Research*, vol. 21. Elsevier B.V., pp. 138–147, 01-Jan-2017.
- [3] S. S. de Jesus and R. M. Filho, "Recent advances in lipid extraction using green solvents," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 133. Elsevier Ltd, p. 110289, 01-Nov-2020.
- [4] F. Sahena *et al.*, "Application of supercritical CO₂ in lipid extraction - A review," *Journal of Food Engineering*, vol. 95, no. 2. Elsevier, pp. 240–253, 01-Nov-2009.
- [5] A. E. Griel and P. M. Kris-Etherton, "Tree nuts and the lipid profile: A review of clinical studies," *British Journal of Nutrition*, vol. 96, no. SUPPL. 2. Cambridge University Press, pp. S68–S78, 2006.
- [6] M. T. Arts, R. G. Ackman, and B. J. Holub, "'Essential fatty acids' in aquatic ecosystems: A crucial link between diet and human health and evolution," *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, vol. 58, no. 1, pp. 122–137, 2001.
- [7] M. M. R. de Melo, A. J. D. Silvestre, and C. M. Silva, "Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 92, pp. 115–176, Aug. 2014.
- [8] H. Nejia, "Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles," p. 193, 2013.
- [9] F. Temelli, "Perspectives on supercritical fluid processing of fats and oils," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 47, no. 3, pp. 583–590, 2009.
- [10] A. A. Clifford, "Supercritical Fluid Extraction," no. 1994, pp. 1442–1448, 2000.
- [11] F. Sahena *et al.*, "Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – A review," *J. Food Eng.*, vol. 95, no. 2, pp. 240–253, Nov. 2009.
- [12] H. Peker, M. P. Srinivasan, J. M. Smith, and B. J. McCoy, "Caffeine extraction rates from coffee beans with supercritical carbon dioxide," *AIChE J.*, vol. 38, no. 5, pp. 761–770, May 1992.
- [13] J. Folch, M. Lees, and G. H. S. Stanley, "A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues," *J Biol Chem*, vol. 226, no. 1. pp. 497–509, 1957.
- [14] A. Maton, *Human biology and health*, 1st ed. Englewood Cliffs N.J.: Prentice Hall, 1993.

- [15] A. A. Spector and M. A. Yorek, "Membrane lipid composition and cellular function.," *J. Lipid Res.*, vol. 26, no. 9, pp. 1015–35, Sep. 1985.
- [16] K. Ekroos, I. V Chernushevich, K. Simons, and A. Shevchenko, "Quantitative profiling of phospholipids by multiple precursor ion scanning on a hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometer.," *Anal. Chem.*, vol. 74, no. 5, pp. 941–9, Mar. 2002.
- [17] O. Masson, *Biochimie : bases biochimiques de la diététique*. Lavoisier tec et doc, 2007.
- [18] J. L. Bernal, M. T. Martín, and L. Toribio, "Supercritical fluid chromatography in food analysis," *J. Chromatogr. A*, vol. 1313, pp. 24–36, Oct. 2013.
- [19] C. Alais, G. Linden, and L. Miclo, *Biochimie alimentaire*. Dunod, 2008.
- [20] R. G. Vernon, M. C. Berber, and M. T. Travers, "Développements récents dans les études de la lipogenèse chez l' Homme et chez les animaux," *INRA Prod. Anim.*, vol. 12, no. 4, pp. 319–327, 1999.
- [21] M. Rahmani, "Composition chimique de l'huile d'argane « vierge »,," *Cah. Agric.*, vol. 14, no. 5, pp. 461–465, 2005.
- [22] N. Maata *et al.*, "Détection de l'adulteration de l'huile d'argane par des huiles végétales vierges et raffinées," *Actes du Prem. Congrès Int. l' Arganier, Agadir*, pp. 179–184, 2011.
- [23] I. Ben Tekaya and M. Hassouna, "Etude De La Stabilité Oxydative De L'Huile D'Olive Vierge Extra Tunisienne Au Cours De Son Stockage," *OCL - Ol. Corps Gras Lipides*, vol. 12, no. 5–6, pp. 447–454, 2005.
- [24] F. Fougère and P. Ferré, "Mécanisme de stockage et de synthèse des acides gras et des triglycérides dans le tissu adipeux blanc," in *Physiologie et physiopathologie du tissu adipeux*, Paris: Springer Paris, 2013, pp. 101–122.
- [25] M. B. Katan, S. M. Grundy, P. Jones, M. Law, T. Miettinen, and R. Paoletti, "Efficacy and Safety of Plant Stanols and Sterols in the Management of Blood Cholesterol Levels," *Mayo Clin. Proc.*, vol. 78, no. 8, pp. 965–978, 2003.
- [26] F. Soxhlet, "Analyse de poids de la matière grasse du lait," *Polytech. J.*, vol. 232, pp. 461–465, 1879.
- [27] M. D. L. De Castro, "Soxhlet extraction : Past and present panacea," *J. Chromatogr. A*, vol. 1217, no. 16, pp. 2383–2389, 2010.
- [28] M. D. Luque de Castro and L. E. García-Ayuso, "Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future," *Anal. Chim. Acta*, vol. 369, no. 1–2, pp. 1–10, 1998.
- [29] E. G. Bligh and W. J. Dyer, "A rapid method of total lipid extraction and purification.," *Can. J. Biochem. Physiol.*, vol. 37, no. 8, pp. 911–917, 1959.
- [30] S. J. Iverson, S. L. C. Lang, and M. H. Cooper, "Comparison of the bligh and dyer and folch methods for total lipid determination in a broad range of marine tissue," *Lipids*, vol. 36, no. 11, pp. 1283–1287, Nov. 2001.

- [31] A. Hara and N. S. Radin, "Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent," *Anal. Biochem.*, vol. 90, no. 1, pp. 420–6, Oct. 1978.
- [32] T. Mason, "The uses of ultrasound in food technology," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 3, no. 3, pp. S253–S260, 1996.
- [33] M. Romdhane, C. Gourdon, and G. Casamatta, "Local investigation of some ultrasonic devices by means of a thermal sensor," *Ultrasonics*, vol. 33, no. 3, pp. 221–227, May 1995.
- [34] M. Romdhane and C. Gourdon, "Investigation in solid–liquid extraction: influence of ultrasound," *Chem. Eng. J.*, vol. 87, no. 1, pp. 11–19, May 2002.
- [35] H. Li, L. Pordesimo, and J. Weiss, "High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans," *Food Res. Int.*, vol. 37, no. 7, pp. 731–738, 2004.
- [36] M. Sališová, Š. Toma, and T. J. Mason, "Comparison of conventional and ultrasonically assisted extractions of pharmaceutically active compounds from *Salvia officinalis*," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 4, no. 2, pp. 131–134, Apr. 1997.
- [37] S. Chemat, A. Lagha, H. AitAmar, P. V. Bartels, and F. Chemat, "Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds," *Flavour Fragr. J.*, vol. 19, no. 3, pp. 188–195, May 2004.
- [38] K. Ganzler, A. Salgó, and K. Valkó, "Microwave extraction : A novel sample preparation method for chromatography," *J. Chromatogr. A*, vol. 371, pp. 299–306, Dec. 1986.
- [39] B. Kaufmann and P. Christen, "Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction," *Phytochem. Anal.*, vol. 13, no. 2, pp. 105–113, Mar. 2002.
- [40] M. Kratchanova, E. Pavlova, and I. Panchev, "The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin," *Carbohydr. Polym.*, vol. 56, no. 2, pp. 181–185, Jun. 2004.
- [41] C. Cagniard de la Tour, "Exposé de quelques résultats obtenu par l'action combinée de la chaleur et de la compression sur certains liquides, tels que l'eau, l'alcool, l'éther sulfurique et l'essence de pétrole rectifiée," in *Annales de chimie et de physique*, vol. 21, 1822, pp. 127–132.
- [42] B. (S. B. . et B. (E. . PEREDA (S.), "Fundamentals of supercritical fluid technology," in *Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds*, J. L. (José L. Martinez, Ed. CRC Press, 2008, pp. 1–24.
- [43] N. T. Dunford, "Utilization of supercritical fluid technology for oil and oilseed processing," in *Nutritionally enhanced edible oil and oilseed processing*, N. T. Dunford and H. Brian Dunford, Eds. AOCS Press, 2004, pp. 100–116.
- [44] M. PERRUT, "Extraction par fluide supercritique," *Ref TIP452WEB - "Opérations unitaires. Génie la réaction Chim.*, Mar. 1999.
- [45] R. C. Pradhan, V. Meda, P. K. Rout, S. Naik, and A. K. Dalai, "Supercritical CO₂ extraction of fatty oil from flaxseed and comparison with screw press expression and solvent extraction processes," *J. Food Eng.*, vol. 98, no. 4, pp.

- 393–397, 2010.
- [46] R. S. Mohamed, M. D. A. Saldaña, P. Mazzafera, C. Zetzl, and G. Brunner, "Extraction of Caffeine, Theobromine, and Cocoa Butter from Brazilian Cocoa Beans Using Supercritical CO₂ and Ethane," *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 41, no. 26, pp. 6751–6758, Dec. 2002.
- [47] O. J. Catchpole, J. B. Grey, N. B. Perry, E. J. Burgess, W. A. Redmond, and N. G. Porter, "Extraction of Chili, Black Pepper, and Ginger with Near-Critical CO₂, Propane, and Dimethyl Ether: Analysis of the Extracts by Quantitative Nuclear Magnetic Resonance," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, no. 17, pp. 4853–4860, Aug. 2003.
- [48] P. Capriel, A. Haisch, and S. U. Khan, "Supercritical methanol: an efficacious technique for the extraction of bound pesticide residues from soil and plant samples," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 34, no. 1, pp. 70–73, Jan. 1986.
- [49] Q. Xueren and L. Jian, "Extraction of cellulose with subcritical and supercritical ethanol," *J. For. Res.*, vol. 10, no. 4, pp. 195–198, Dec. 1999.
- [50] A. Demirbaş, "Analysis of beech wood fatty acids by supercritical acetone extraction," *Wood Sci. Technol.*, vol. 25, no. 5, pp. 365–370, Jul. 1991.
- [51] P. Capriel, T. Beck, H. Borchert, and P. Härter, "Relationship between Soil Aliphatic Fraction Extracted with Supercritical Hexane, Soil Microbial Biomass, and Soil Aggregate Stability," *Soil Sci. Soc. Am. J.*, vol. 54, no. 2, p. 415, 1990.
- [52] S. B. Hawthorne, Y. Yang, and D. J. Miller, "Extraction of Organic Pollutants from Environmental Solids with Sub- and Supercritical Water," *Anal. Chem.*, vol. 66, no. 18, pp. 2912–2920, Sep. 1994.
- [53] K. Zosel, "Process for recovering caffeine," *US Pat. 3.806.619*, May 1972.
- [54] Q.-L. Sun, S. Hua, J.-H. Ye, J.-L. Lu, X.-Q. Zheng, and Y.-R. Liang, "Decaffeination of green tea by supercritical carbon dioxide," *J. Med. Plants Res.*, vol. 4, no. 12, pp. 1161–1168, Jun. 2010.
- [55] P. Fantozzi, L. Montanari, ... M. R.-I. J. of F., and undefined 1993, "Removal of nicotine from tobacco leaf protein by supercritical CO₂," *agris.fao.org*.
- [56] A. Brachet, P. Christen, J.-Y. Gauthier, R. Longerey, P. Lantéri, and J.-L. Veuthey, "Experimental design in supercritical fluid extraction of cocaine from coca leaves," *J. Biochem. Biophys. Methods*, vol. 43, no. 1–3, pp. 353–366, Jul. 2000.
- [57] E. Ziémons, E. Goffin, R. Lejeune, A. Proença Da Cunha, L. Angenot, and L. Thunus, "Supercritical carbon dioxide extraction of tagitinin C from *Tithonia diversifolia*," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 33, pp. 53–59, 2005.
- [58] L. T. Danh, N. D. A. Triet, L. T. N. Han, J. Zhao, R. Mammucari, and N. Foster, "Antioxidant activity, yield and chemical composition of lavender essential oil extracted by supercritical CO₂," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 70, pp. 27–34, Oct. 2012.
- [59] M. Oszagyán, B. Simándi, J. Sawinsky, Á. Kéry, E. Lemberkovics, and J. Fekete, "Supercritical Fluid Extraction of Volatile Compounds from Lavandin and

- Thyme," *Flavour Fragr. J.*, vol. 11, no. 3, pp. 157–165, May 1996.
- [60] J. P. Coelho *et al.*, "Extraction of Volatile Oil from Aromatic Plants with Supercritical Carbon Dioxide: Experiments and Modeling," *Molecules*, vol. 17, no. 9, pp. 10550–10573, Sep. 2012.
- [61] M. HERRERO, A. CIFUENTES, and E. IBANEZ, "Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgaeA review," *Food Chem.*, vol. 98, no. 1, pp. 136–148, 2006.
- [62] A. G. ARREOLA, M. O. BALABAN, M. R. MARSHALL, A. J. PELOW, C. I. WEI, and J. A. CORNELL, "Supercritical Carbon Dioxide Effects on Some Quality Attributes of Single Strength Orange Juice," *J. Food Sci.*, vol. 56, no. 4, pp. 1030–1033, Jul. 1991.
- [63] G. Brunner, "Supercritical fluids: technology and application to food processing," *J. Food Eng.*, vol. 67, no. 1–2, pp. 21–33, Mar. 2005.
- [64] G. W. Froning, R. L. Wehling, S. Cuppett, and L. Niemann, "Moisture Content and Particle Size of Dehydrated Egg Yolk Affect Lipid and Cholesterol Extraction Using Supercritical Carbon Dioxide 1 , 2 Sample Preparation Sample Preparation," pp. 1718–1722, 1994.
- [65] J. ARUL, A. BOUDREAU, J. MAKHLOUF, R. TARDIF, and M. R. SAHASRABUDHE, "Fractionation of Anhydrous Milk Fat by Superficial Carbon Dioxide," *J. Food Sci.*, vol. 52, no. 5, pp. 1231–1236, Sep. 1987.
- [66] S. LIM and S. S. H. RIZVI, "Continuous Supercritical Fluid Processing of Anhydrous Milk Fat in a Packed Column," *J. Food Sci.*, vol. 60, no. 5, pp. 889–893, Sep. 1995.
- [67] R. R. Chao, S. J. Mulvaney, M. E. Bailey, and L. N. Fernando, "Supercritical CO₂ Conditions Affecting Extraction of Lipids and Cholesterol from Ground Beef," *J. Food Sci.*, vol. 56, no. 1, pp. 183–187, 1991.
- [68] J. A. MERKLE and D. K. LARICK, "Fatty Acid Content of Supercritical Carbon Dioxide Extracted Fractions of Beef Fat," *J. Food Sci.*, vol. 58, no. 6, pp. 1237–1240, 1993.
- [69] M. Létisse, M. Rozières, A. Hiol, M. Sergent, and L. Comeau, "Enrichment of EPA and DHA from sardine by supercritical fluid extraction without organic modifier: I. Optimization of extraction conditions," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 38, no. 1, pp. 27–36, Aug. 2006.
- [70] M. M. Esquivel *et al.*, "Supercritical Carbon Dioxide Extraction of SardineSardina pilchardusOil," *Leb. und-Technologie*, vol. 30, no. 7, pp. 715–720, 1997.
- [71] H. Berg, M. Mågård, G. Johansson, and L. Mathiasson, "Development of a supercritical fluid extraction method for determination of lipid classes and total fat in meats and its comparison with conventional methods," *J. Chromatogr. A*, vol. 785, no. 1–2, pp. 345–352, 1997.
- [72] F. Sahena, I. S. M. Zaidul, S. Jinap, M. H. A. Jahurul, A. Khatib, and N. A. N. Norulaini, "Extraction of fish oil from the skin of Indian mackerel using

- supercritical fluids," *J. Food Eng.*, vol. 99, no. 1, pp. 63–69, Jul. 2010.
- [73] N. T. Dunford, M. Goto, and F. Temelli, "Modeling of oil extraction with supercritical CO₂ from Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) at different moisture contents," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 13, no. 1–3, pp. 303–309, 1998.
- [74] N. T. DUNFORD, F. TEMELLI, and E. LeBLANC, "Supercritical CO₂ Extraction of Oil and Residual Proteins from Atlantic Mackerel (*Scomber scombrus*) as Affected by Moisture Content," *J. Food Sci.*, vol. 62, no. 2, pp. 289–294, Mar. 1997.
- [75] F. L. F. TEMELLI, E. Leblanc, "Supercritical CO₂ Extraction of Oil from Atlantic Mackerel (*Scomber scombrus*) and Protein Functionality," vol. 60, no. 4, pp. 703–706, 1995.
- [76] N. Rubio-Rodríguez, S. M. de Diego, S. Beltrán, I. Jaime, M. T. Sanz, and J. Rovira, "Supercritical fluid extraction of the omega-3 rich oil contained in hake (*Merluccius capensis*–*Merluccius paradoxus*) by-products: Study of the influence of process parameters on the extraction yield and oil quality," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 47, no. 2, pp. 215–226, Dec. 2008.
- [77] V. Treyvaud Amiguet *et al.*, "Supercritical carbon dioxide extraction of polyunsaturated fatty acids from Northern shrimp (*Pandalus borealis* Kreyer) processing by-products," *Food Chem.*, vol. 130, no. 4, pp. 853–858, Feb. 2012.
- [78] A. P. Sánchez-Camargo, H. A. Martínez-Correa, L. C. Paviani, and F. A. Cabral, "Supercritical CO₂ extraction of lipids and astaxanthin from Brazilian redspotted shrimp waste (*Farfantepenaeus paulensis*)," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 56, no. 2, pp. 164–173, Mar. 2011.
- [79] S. L. Taylor, F. J. Eller, and J. W. King, "A comparison of oil and fat content in oilseeds and ground beef - Using supercritical fluid extraction and related analytical techniques," *Food Res. Int.*, vol. 30, no. 5, pp. 365–370, 1997.
- [80] D.-Y. Zhou *et al.*, "Original article: Extraction of lipid from scallop (*Patinopecten yessoensis*) viscera by enzyme-assisted solvent and supercritical carbon dioxide methods," *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 45, no. 9, pp. 1787–1793, Sep. 2010.
- [81] Z. Hou, Y. Zheng, Y. Gao, X. Liu, F. Yuan, and G. Liu, "Optimization of supercritical carbon dioxide removal of lipid and cholesterol from goat placenta using response surface methodology," *Food Bioprod. Process.*, vol. 88, no. 2–3, pp. 298–304, 2010.
- [82] S. Tang, C. Qin, H. Wang, S. Li, and S. Tian, "Study on supercritical extraction of lipids and enrichment of DHA from oil-rich microalgae," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 57, no. 1, pp. 44–49, May 2011.
- [83] S. Machmudah, A. Sulaswaty, M. Sasaki, M. Goto, and T. Hirose, "Supercritical CO₂ extraction of nutmeg oil : Experiments and modeling," vol. 39, pp. 30–39, 2006.
- [84] O. Döker, U. Salgin, N. Yildiz, M. Aydoğmuş, and A. Çalimli, "Extraction of sesame seed oil using supercritical CO₂ and mathematical modeling," *J. Food Eng.*, vol.

- 97, no. 3, pp. 360–366, Apr. 2010.
- [85] U. Salgin, O. Döker, and A. Çalimli, “Extraction of sunflower oil with supercritical CO₂: Experiments and modeling,” *J. Supercrit. Fluids*, vol. 38, no. 3, pp. 326–331, 2006.
- [86] H. W. P. Charlotte E. SEAL, Ilse KRANNER, “Quantification of Seed Oil from Species with Varying Oil Content using Supercritical Fluid Extraction,” *Phytochem. Anal.*, vol. 19, no. May, pp. 493–498, 2008.
- [87] A. Rai, B. Mohanty, and R. Bhargava, “Supercritical extraction of sunflower oil: A central composite design for extraction variables,” *Food Chem.*, vol. 192, pp. 647–659, 2016.
- [88] G. A. Núñez, C. A. Gelmi, and J. M. Valle, “Simulation of a supercritical carbon dioxide extraction plant with three extraction vessels,” *Comput. Chem. Eng.*, vol. 35, pp. 2687–2695, 2011.
- [89] J. M. Del Valle, J. C. Germain, E. Uquiche, C. Zetzl, and G. Brunner, “Microstructural effects on internal mass transfer of lipids in prepressed and flaked vegetable substrates,” *J. Supercrit. Fluids*, vol. 37, no. 2, pp. 178–190, 2006.
- [90] A. de Lucas, J. Rincón, and I. Gracia, “Influence of operation variables on quality parameters of olive husk oil extracted with CO₂: Three-step sequential extraction,” *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 80, no. 2, pp. 181–188, Feb. 2003.
- [91] L. C. del Valle, S. Bello, J. Thiel, A. Allen, “Comparision Of Conventional and Supercritical CO₂ Extracted Rosehip Oil,” *Brazilian J. Chem. Eng.*, vol. 17, no. 3, 2000.
- [92] R. Eggers, A. Ambrogi, and J. von Schnitzler, “Special features of SCF solid extraction of natural products: deoiling of wheat gluten and extraction of rose hip oil,” *Brazilian J. Chem. Eng.*, vol. 17, no. 3, pp. 329–334, Sep. 2000.
- [93] E. Reverchon, A. Kaziunas, and C. Marrone, “Supercritical CO extraction of hiprose seed oil : experiments and mathematical modelling,” vol. 55, pp. 2195–2201, 2000.
- [94] J. C. Germain, J. M. Del Valle, and J. C. De La Fuente, “Natural convection retards supercritical CO₂ extraction of essential oils and lipids from vegetable substrates,” *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 44, no. 8, pp. 2879–2886, 2005.
- [95] L. Fiori, “Grape seed oil supercritical extraction kinetic and solubility data: Critical approach and modeling,” *J. Supercrit. Fluids*, vol. 43, no. 1, pp. 43–54, Nov. 2007.
- [96] X. Cao and Y. Ito, “Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1021, no. 1–2, pp. 117–124, Dec. 2003.
- [97] J. M. Prado *et al.*, “Supercritical fluid extraction of grape seed: Process scale-up, extract chemical composition and economic evaluation,” *J. Food Eng.*, vol. 109, no. 2, pp. 249–257, Mar. 2012.

- [98] P. Mitra, H. S. Ramaswamy, and K. S. Chang, "Pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil extraction using supercritical carbon dioxide and physicochemical properties of the oil," *J. Food Eng.*, vol. 95, no. 1, pp. 208–213, 2009.
- [99] M. G. Bernardo-Gil and L. M. C. Lopes, "Supercritical fluid extraction of *Cucurbita ficifolia* seed oil," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 219, no. 6, pp. 593–597, Nov. 2004.
- [100] Y. Wenli, Z. Yaping, C. Jingjing, and S. Bo, "Comparison of two kinds of pumpkin seed oils obtained by supercritical CO₂ extraction," *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, vol. 106, no. 6, pp. 355–358, 2004.
- [101] N. Mezzomo, J. Martínez, and S. R. S. Ferreira, "Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) almond oil: Kinetics, mathematical modeling and scale-up," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 51, no. 1, pp. 10–16, Nov. 2009.
- [102] Y. Sánchez-Vicente, A. Cabañas, J. A. R. Renuncio, and C. Pando, "Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) seed oil using carbon dioxide and ethanol," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 49, no. 2, pp. 167–173, Jun. 2009.
- [103] N. Mezzomo, B. R. Mileo, M. T. Friedrich, J. Martínez, and S. R. S. Ferreira, "Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) almond oil: Process yield and extract composition," *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 14, pp. 5622–5632, Jul. 2010.
- [104] M. L. Martínez, M. A. Mattea, and D. M. Maestri, "Pressing and supercritical carbon dioxide extraction of walnut oil," *J. Food Eng.*, vol. 88, no. 3, pp. 399–404, Oct. 2008.
- [105] R. Oliveira, M. Fátima Rodrigues, and M. Gabriela Bernardo-Gil, "Characterization and supercritical carbon dioxide extraction of walnut oil," *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 79, no. 3, pp. 225–230, Mar. 2002.
- [106] M. G. Bernardo-Gil, J. Grenha, J. Santos, and P. Cardoso, "Supercritical fluid extraction and characterisation of oil from hazelnut," *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, vol. 104, no. 7, pp. 402–409, 2002.
- [107] S. G. Özkal, U. Salgın, and M. E. Yener, "Supercritical carbon dioxide extraction of hazelnut oil," *J. Food Eng.*, vol. 69, no. 2, pp. 217–223, Jul. 2005.
- [108] I. S. M. Zaidul, N. A. Nik Norulaini, A. K. Mohd Omar, and R. L. Smith, "Supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) extraction of palm kernel oil from palm kernel," *J. Food Eng.*, vol. 79, no. 3, pp. 1007–1014, Apr. 2007.
- [109] H. L. N. . b c Lau, Y. M. . Choo, A. N. . Ma, and C. H. . Chuah, "Characterization and supercritical carbon dioxide extraction of palm oil (*Elaeis guineensis*)," *J. Food Lipids*, vol. 13, no. 2, pp. 210–221, 2006.
- [110] D. S. Ivanov, R. R. Čolović, J. D. Lević, and S. A. Sredanović, "Optimization of supercritical fluid extraction of linseed oil using RSM," *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, vol. 114, no. 7, pp. 807–815, 2012.
- [111] B. Bozan and F. Temelli, "Supercritical CO₂ extraction of flaxseed," *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 79, no. 3, pp. 231–235, Mar. 2002.

- [112] S. G. Özkal, "Response Surface Analysis and Modeling of Flaxseed Oil Yield in Supercritical Carbon Dioxide," *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 86, no. 11, pp. 1129–1135, 2009.
- [113] E. L. Galvão, J. Martínez, H. N. M. de Oliveira, and E. M. B. D. de Sousa, "SUPERCRITICAL EXTRACTION OF LINSEED OIL: ECONOMICAL VIABILITY AND MODELING EXTRACTION CURVES," *Chem. Eng. Commun.*, vol. 200, no. 2, pp. 205–221, Jan. 2013.
- [114] S. R. R. Comim, K. Madella, J. V. Oliveira, and S. R. S. Ferreira, "Supercritical fluid extraction from dried banana peel (*Musa spp.*, genomic group AAB): Extraction yield, mathematical modeling, economical analysis and phase equilibria," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 54, no. 1, pp. 30–37, 2010.
- [115] P. Bhattacharjee, R. S. Singhal, and S. R. Tiwari, "Supercritical carbon dioxide extraction of cottonseed oil," *J. Food Eng.*, vol. 79, no. 3, pp. 892–898, 2007.
- [116] M. Dobarganes Nodar, A. Molero Gómez, and E. Martínez de la Ossa, "Characterisation and Process Development of Supercritical Fluid Extraction of Soybean Oil," *Food Sci. Technol. Int.*, vol. 8, no. 6, pp. 337–342, 2002.
- [117] L. Ferreira de França, G. Reber, M. A. a Meireles, N. T. Machado, and G. Brunner, "Supercritical extraction of carotenoids and lipids from buriti (*Mauritia flexuosa*), a fruit from the Amazon region," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 14, no. 3, pp. 247–256, 1999.
- [118] A. Rajaei, M. Barzegar, and Y. Yamini, "Supercritical fluid extraction of tea seed oil and its comparison with solvent extraction," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 220, no. 3–4, pp. 401–405, 2005.
- [119] C.-L. Ye and Y.-F. Lai, "Supercritical CO₂ Extraction Optimization of Onion Oil Using Response Surface Methodology," *Chem. Eng. Technol.*, vol. 35, no. 4, pp. 646–652, Apr. 2012.
- [120] I. Papamichail, V. Louli, and K. Magoulas, "Supercritical fluid extraction of celery seed oil," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 18, no. 3, pp. 213–226, 2000.
- [121] X. Han, L. Cheng, R. Zhang, and J. Bi, "Extraction of safflower seed oil by supercritical CO₂," *J. Food Eng.*, vol. 92, no. 4, pp. 370–376, 2009.
- [122] R. M. Couto, J. Fernandes, M. D. R. G. da Silva, and P. C. Simões, "Supercritical fluid extraction of lipids from spent coffee grounds," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 51, no. 2, pp. 159–166, Dec. 2009.
- [123] W. Xu, K. Chu, H. Li, L. Chen, Y. Zhang, and X. Tang, "Extraction of *Lepidium apetalum* Seed Oil Using Supercritical Carbon Dioxide and Anti-Oxidant Activity of the Extracted Oil," *Molecules*, vol. 16, no. 12, pp. 10029–10045, Dec. 2011.
- [124] M. V. Rao, A. H. Al-Marzouqi, F. S. Kaneez, S. S. Ashraf, and A. Adem, "Comparative Evaluation of SFE and Solvent Extraction Methods on the Yield and Composition of Black Seeds (*Nigella Sativa*)," *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, vol. 30, no. 17, pp. 2545–2555, Aug. 2007.
- [125] S. Machmudah, Y. Shiramizu, M. Goto, M. Sasaki, and T. Hirose, "Extraction of *Nigella sativa L.* using Supercritical CO₂: A Study of Antioxidant Activity of the

- Extract," *Sep. Sci. Technol.*, vol. 40, no. 6, pp. 1267–1275, Apr. 2005.
- [126] L. Danielski, C. Zetzl, H. Hense, and G. Brunner, "A process line for the production of raffinated rice oil from rice bran," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 34, no. 2, pp. 133–141, Jun. 2005.
- [127] G. Perretti, E. Miniati, L. Montanari, and P. Fantozzi, "Improving the value of rice by-products by SFE," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 26, no. 1, pp. 63–71, May 2003.
- [128] H.-C. Wang, C.-R. Chen, and C. J. Chang, "Carbon dioxide extraction of ginseng root hair oil and ginsenosides," *Food Chem.*, vol. 72, no. 4, pp. 505–509, Mar. 2001.
- [129] M. Ismail, A. Mariod, G. Bagalkotkar, and H. Sy Ling, "Fatty acid composition and antioxidant activity of oils from two cultivars of Cantaloupe extracted by supercritical fluid extraction," *Grasas y Aceites*, vol. 61, no. 1, pp. 37–44, 2009.
- [130] M. Reddy, R. Moodley, and S. B. Jonnalagadda, "Fatty acid profile and elemental content of avocado (*Persea americana Mill.*) oil –effect of extraction methods," *J. Environ. Sci. Heal. Part B*, vol. 47, no. 6, pp. 529–537, Jul. 2012.
- [131] V. Louli, G. Folas, E. Voutsas, and K. Magoulas, "Extraction of parsley seed oil by supercritical CO₂," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 30, no. 2, pp. 163–174, Jul. 2004.
- [132] L. Zhiyi *et al.*, "An experimental and simulating study of supercritical CO₂ extraction for pepper oil," *Chem. Eng. Process. Process Intensif.*, vol. 45, no. 4, pp. 264–267, Apr. 2006.
- [133] C. Perakis, V. Louli, and K. Magoulas, "Supercritical fluid extraction of black pepper oil," *J. Food Eng.*, vol. 71, no. 4, pp. 386–393, Dec. 2005.
- [134] *,† Antoni Femenia, † Mariola García-Marín, † Susana Simal, † and Carmen Rosselló, and M. Blasco‡, "Effects of Supercritical Carbon Dioxide (SC-CO₂) Oil Extraction on the Cell Wall Composition of Almond Fruits," 2001.
- [135] L. Leo, L. Rescio, L. Ciurlia, and G. Zacheo, "Supercritical carbon dioxide extraction of oil and α -tocopherol from almond seeds," *J. Sci. Food Agric.*, vol. 85, no. 13, pp. 2167–2174, Oct. 2005.
- [136] S. G. Özkal, M. E. Yener, and L. Bayindirli, "Mass transfer modeling of apricot kernel oil extraction with supercritical carbon dioxide," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 35, no. 2, pp. 119–127, 2005.
- [137] S. G. Özkal, M. E. Yener, and L. Bayındırlı, "Response surfaces of apricot kernel oil yield in supercritical carbon dioxide," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 38, no. 6, pp. 611–616, Sep. 2005.
- [138] G. Bernardo-Gil, C. Oneto, P. Antunes, M. F. Rodrigues, and J. M. Empis, "Extraction of lipids from cherry seed oil using supercritical carbon dioxide," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 212, no. 2, pp. 170–174, Jan. 2001.
- [139] G. Liu, X. Xu, Q. Hao, and Y. Gao, "Supercritical CO₂ extraction optimization of pomegranate (*Punica granatum L.*) seed oil using response surface methodology," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 42, no. 9, pp. 1491–1495, 2009.
- [140] I. M. G. Lopes and M. G. Bernardo-Gil, "Characterisation of acorn oils extracted

- by hexane and by supercritical carbon dioxide," *Eur. J. LIPID Sci. Technol.*, vol. 107, no. 1, pp. 12–19, Jan. 2005.
- [141] U. Salgin, A. Calimli, and B. Zühtü Uysal, "Supercritical Fluid Extraction of Jojoba Oil," *Jaocs*, vol. 81, no. 3, pp. 293–296, 2004.
- [142] B. J. Cohen, J. J. Taylor, and J.-L. Pradel, *Structure et fonctions du corps humain: anatomie et physiologie*, 10ème. Paris: Maloine, 2008.
- [143] J. Schaller, S. Gerber, U. Kämpfer, S. Lejon, and C. Trachsel, *Human Blood Plasma Proteins: Structure and Function*. John Wiley and Sons, 2008.
- [144] C. Robert and P. Vincent, *Biologie et physiologie humaines : manuel de formation initiale*. Librairie Vuibert, 1997.
- [145] R. Nolwennig, *Procede Hautes Pressions de Securisation du Plasma Sanguin Humain*. 2009.
- [146] Z. MAQSOOD, *Prescription des Statines en Soins Primaires d'après les Données Scientifiques Actuelles*. 2014.
- [147] G. J. Aillaud, "L'olivier et l'huile d'olive, le point de vue des botanistes," in *L'huile d'olive en Méditerranée*, Institut de recherches et d'études sur le monde arabe et musulman, 1985, pp. 13–24.
- [148] D. Caruso, B. Berra, F. Giavarini, N. Cortesi, E. Fedeli, and G. Galli, "Effect of virgin olive oil phenolic compounds on in vitro oxidation of human low density lipoproteins.," *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, vol. 9, no. 3, pp. 102–7, Jun. 1999.
- [149] D. and P. Brothwell, *FOOD IN ANTIQUITY, a survey of the diet of early peoples*. 1969.
- [150] "La culture de l'olivier," *Institu Tech. l'Arboculture Fruitière la Vigne*, pp. 3–36, 1996.
- [151] A. M. Giuffrè, "Analytical characteristics of olive oil produced with three different processes in Algeria," *Riv. Ital. Delle Sostanze Grasse*, no. July 2010, 2010.
- [152] S. Abdessemed, I. Muzzalupo, and H. Benbouza, "Assessment of genetic diversity among Algerian olive (*Olea europaea* L.) cultivars using SSR marker.," *Sci. Hortic. (Amsterdam)*, vol. 192, pp. 10–20, 2015.
- [153] R. L. MAILLARD, *OLIVIER-COMITE TECHNIQUE DE L OLIVIER.*, SECTION SP. Comite Technique de L Olivier.
- [154] A. E. Pütün, B. B. Uzun, E. Apaydin, and E. Pütün, "Bio-oil from olive oil industry wastes: Pyrolysis of olive residue under different conditions," *Fuel Process. Technol.*, vol. 87, no. 1, pp. 25–32, Dec. 2005.
- [155] Conseil oleicole International, "Norme Commerciale Applicable Aux Huiles D'Olive Et Aux Huiles De Grignons D'Olive," vol. COI/T.15, no. NC n° 3/Rév. 8, pp. 1–18, 2015.
- [156] A. KEYS *et al.*, "THE DIET AND 15-YEAR DEATH RATE IN THE SEVEN COUNTRIES STUDY," *Am. J. Epidemiol.*, vol. 124, no. 6, pp. 903–915, Dec. 1986.

- [157] M. Kratz *et al.*, "Effects of dietary fatty acids on the composition and oxidizability of low-density lipoprotein," *Eur. J. Clin. Nutr.*, vol. 56, no. 1, pp. 72–81, Jan. 2002.
- [158] ITAF, "Catalogue des variétés Algériennes de l'Olivier.pdf."
- [159] E. Baldoni, L. Bolognani, and L. Vitaioli, "A rapid procedure for elimination of non-polar lipids hampering the usual polar lipid extraction and TLC separation," *Eur. J. Histochem.*, vol. 39, no. 4, pp. 253–7, 1995.
- [160] A. Al-Otoom *et al.*, "Extraction of oil from uncrushed olives using supercritical fluid extraction method," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 95, pp. 512–518, 2014.
- [161] M. Perrut, "Les applications des fluides supercritiques," *2 ème Colloq. sur les fluides supercritiques*, pp. 11–27, 1991.
- [162] J. GOUPY, "Plans d'expériences," *Tech. L'INGENIEUR "Qualité sécurité au Lab.*, vol. TIP620WEB, no. P230, 1997.
- [163] W. J. Youden., *Statistical Methods for Chemists*. John Wiley & Sons, Inc., 1952.
- [164] R. L. Plackett and J. P. Burman, "The Design of Optimum Multifactorial Experiments," *Biometrika*, vol. 33, no. 4, p. 305, Jun. 1946.
- [165] M. Bengana *et al.*, "Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of Chemlal extra-virgin olive oil," *Food Res. Int.*, vol. 54, no. 2, pp. 1868–1875, 2013.
- [166] W. Jiang, J. A. Joens, D. D. Dionysiou, and K. E. O'Shea, "Optimization of photocatalytic performance of TiO₂ coated glass microspheres using response surface methodology and the application for degradation of dimethyl phthalate," *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, vol. 262, pp. 7–13, 2013.
- [167] H. L. Liu and Y. R. Chiou, "Optimal decolorization efficiency of Reactive Red 239 by UV/TiO₂ photocatalytic process coupled with response surface methodology," *Chem. Eng. J.*, vol. 112, no. 1–3, pp. 173–179, Sep. 2005.
- [168] M. Khajeh, "Optimization of process variables for essential oil components from *Satureja hortensis* by supercritical fluid extraction using Box-Behnken experimental design," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 55, no. 3, pp. 944–948, 2011.
- [169] K. Yetilmezsoy, S. Demirel, and R. J. Vanderbei, "Response surface modeling of Pb(II) removal from aqueous solution by *Pistacia vera* L.: Box-Behnken experimental design," *J. Hazard. Mater.*, vol. 171, no. 1–3, pp. 551–562, 2009.
- [170] B. C. Roy, M. Goto, and T. Hirose, "Extraction of Ginger Oil with Supercritical Carbon Dioxide: Experiments and Modeling," *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 35, no. 2, pp. 607–612, 1996.
- [171] A. T. Souza *et al.*, "Supercritical extraction process and phase equilibrium of Candeia (*Eremanthus erythropappus*) oil using supercritical carbon dioxide," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 47, pp. 182–187, 2008.
- [172] K. Bouarroudj, A. Tamendjari, and R. Larbat, "Quality, composition and antioxidant activity of Algerian wild olive (*Olea europaea* L. subsp. *Oleaster*) oil," *Ind. Crops Prod.*, vol. 83, pp. 484–491, 2016.

- [173] F. Laincer *et al.*, "Characterization of monovarietal extra virgin olive oils from the province of Béjaia (Algeria)," *Food Res. Int.*, vol. 89, pp. 1123–1133, 2016.
- [174] L. G. Gillingham, S. Harris-Janzen, and P. J. H. Jones, "Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors," *Lipids*, vol. 46, no. 3, pp. 209–228, Mar-2011.
- [175] A. P. Simopoulos and J. J. DiNicolantonio, "The importance of a balanced ω -6 to ω -3 ratio in the prevention and management of obesity," *Open Heart*, vol. 3, no. 2, BMJ Publishing Group, 01-Sep-2016.
- [176] A. P. Simopoulos, "Dietary omega-3 fatty acid deficiency and high fructose intake in the development of metabolic syndrome brain, metabolic abnormalities, and non-alcoholic fatty liver disease," *Nutrients*, vol. 5, no. 8, MDPI AG, pp. 2901–2923, 2013.
- [177] A. P. Simopoulos, "The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases," *Experimental Biology and Medicine*, vol. 233, no. 6, pp. 674–688, Jun-2008.
- [178] Victor R. PREEDY & Ronald Ross WATSSON, *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, First Edit. Elsevier Inc, 2010.
- [179] D. Ouraïni *et al.*, "Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L. et de *Mentha pulegium* L., comparée aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques," *Phytotherapie*, vol. 5, no. 1, pp. 6–14, 2007.
- [180] A. B. Miller *et al.*, "The antibacterial and antifungal activity of essential oils extracted from Guatemalan medicinal plants," *Pharm. Biol.*, vol. 53, no. 4, pp. 548–554, 2015.
- [181] P. R. N. Vieira, S. M. De Morais, F. H. Q. Bezerra, P. A. Travassos, Í. R. Oliveira, and M. G. V. Silva, "Chemical composition and antifungal activity of essential oils from *Ocimum* species," *Ind. Crops Prod.*, vol. 55, pp. 267–271, 2014.
- [182] L. Taylor, *Supercritical Fluid Extraction*, Fourth. Wiley-Interscience, 1996.
- [183] J. M. Del Valle and J. C. De La Fuente, "Supercritical CO₂ extraction of oilseeds: Review of kinetic and equilibrium models," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 46, no. 2, pp. 131–160, Mar. 2006.
- [184] E. L. G. Oliveira, A. J. D. Silvestre, and C. M. Silva, "Review of kinetic models for supercritical fluid extraction," *Chem. Eng. Res. Des.*, vol. 89, no. 7, pp. 1104–1117, Jul. 2011.
- [185] H. Sovová, "Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂-I. Modelling of extraction curves," *Chem. Eng. Sci.*, vol. 49, no. 3, pp. 409–414, Jan. 1994.
- [186] T. Veress, "Sample preparation by supercritical fluid extraction for quantification a model based on the diffusion-layer theory for determination of extraction time," *J. Chromatogr. A*, vol. 668, no. 2, pp. 285–291, May 1994.
- [187] P. Subra, S. Castellani, P. Jestin, and A. Aoufi, "Extraction of β -carotene with

- supercritical fluids Experiments and modelling," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 12, no. 3, pp. 261–269, Jul. 1998.
- [188] E. Reverchon and C. Marrone, "Modeling and simulation of the supercritical CO₂ extraction of vegetable oils," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 19, no. 2, pp. 161–175, Feb. 2001.
- [189] H. Sovová, "Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural products and extraction curve evaluation," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 33, no. 1, pp. 35–52, Jan. 2005.
- [190] K. D. Bartle, A. A. Clifford, S. B. Hawthorne, J. J. Langenfeld, D. J. Miller, and R. Robinson, "A model for dynamic extraction using a supercritical fluid," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 3, no. 3, pp. 143–149, Sep. 1990.
- [191] K. D. Bartle, T. Boddington, A. A. Clifford, and S. B. Hawthorne, "The Effect of solubility on the kinetics of dynamic supercritical-fluid extraction," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 5, no. 3, pp. 207–212, Sep. 1992.
- [192] E. Reverchon, G. Donsi, and L. S. Osséo, "Modeling of Supercritical Fluid Extraction from Herbaceous Matrices," *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 32, no. 11, pp. 2721–2726, Nov. 1993.
- [193] M. M. Esquivel, M. G. Bernardo-Gil, and M. B. King, "Mathematical models for supercritical extraction of olive husk oil," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 16, no. 1, pp. 43–58, Sep. 1999.
- [194] H. Ohira, N. Torii, T. M. Aida, M. Watanabe, and R. L. Smith, "Rapid separation of shikimic acid from Chinese star anise (*Illicium verum* Hook. f.) with hot water extraction," *Sep. Purif. Technol.*, vol. 69, no. 1, pp. 102–108, 2009.
- [195] M. Hojnik, M. Škerget, and Ž. Knez, "Extraction of lutein from Marigold flower petals - Experimental kinetics and modelling," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 41, no. 10, pp. 2008–2016, Dec. 2008.
- [196] C.-S. Tan and D.-C. Liou, "Modeling of desorption at supercritical conditions," *AIChE J.*, vol. 35, no. 6, pp. 1029–1031, Jun. 1989.
- [197] A. Kubátová, B. Jansen, J. F. Vaudoisot, and S. B. Hawthorne, "Thermodynamic and kinetic models for the extraction of essential oil from savory and polycyclic aromatic hydrocarbons from soil with hot (subcritical) water and supercritical CO₂," *J. Chromatogr. A*, vol. 975, no. 1, pp. 175–188, Oct. 2002.
- [198] M. Goto, B. C. Roy, and T. Hirose, "Shrinking-core leaching model for supercritical-fluid extraction," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 9, no. 2, pp. 128–133, Jun. 1996.
- [199] E. Reverchon and I. De Marco, "Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter," *Journal of Supercritical Fluids*, vol. 38, no. 2. Elsevier, pp. 146–166, 01-Sep-2006.
- [200] F. Gaspar, T. Lu, R. Santos, and B. Al-Duri, "Modelling the extraction of essential oils with compressed carbon dioxide," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 25, no. 3, pp. 247–260, Apr. 2003.

- [201] A. Rai, R. Bhargava, and B. Mohanty, "Simulation of supercritical fluid extraction of essential oil from natural products," *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants*, vol. 5, pp. 1–9, 2017.
- [202] Z. AHMED, "ETUDE DE L'EXTRACTION SUPERCRITIQUE APPLICATION AUX SYSTEMES AGROALIMENTAIRES," p. 148.
- [203] J. M. Del Valle, J. C. De La Fuente, and E. Uquiche, "A refined equation for predicting the solubility of vegetable oils in high-pressure CO₂," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 67, pp. 60–70, 2012.

ANNEXES

Annexe A

Equipement d'extraction



Figure A1 : Pilote d'extraction.

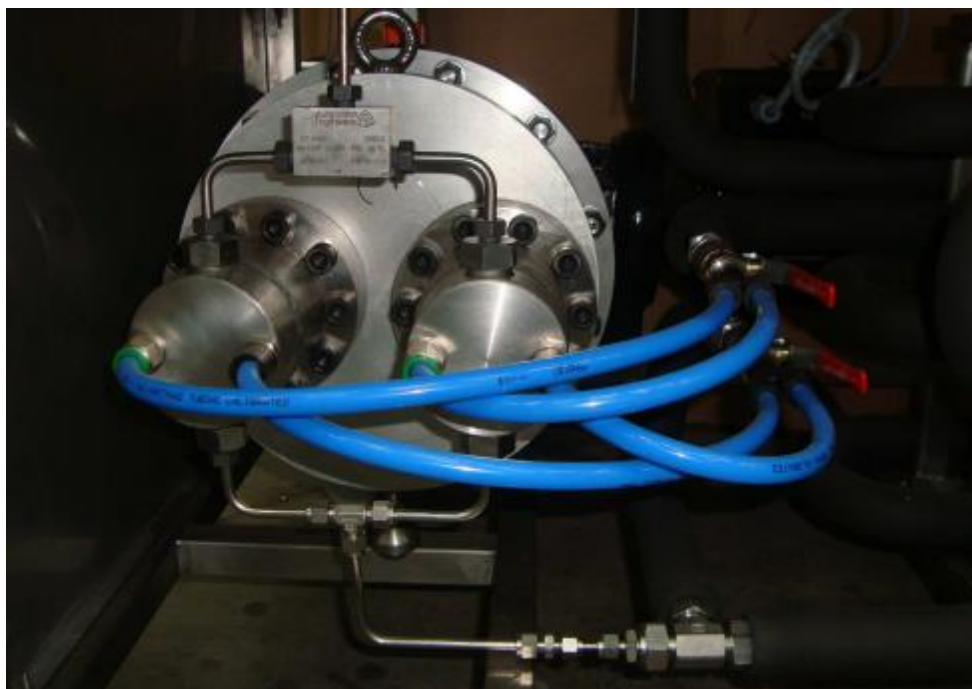


Figure A2 : Pompe.



Figure A3 : Réacteur.



Figure A4 : Réacteur remplie (avec panier).



Figure A5 : Panier de l'échantillon.



Figure A6 : Réacteur vide (sans panier).

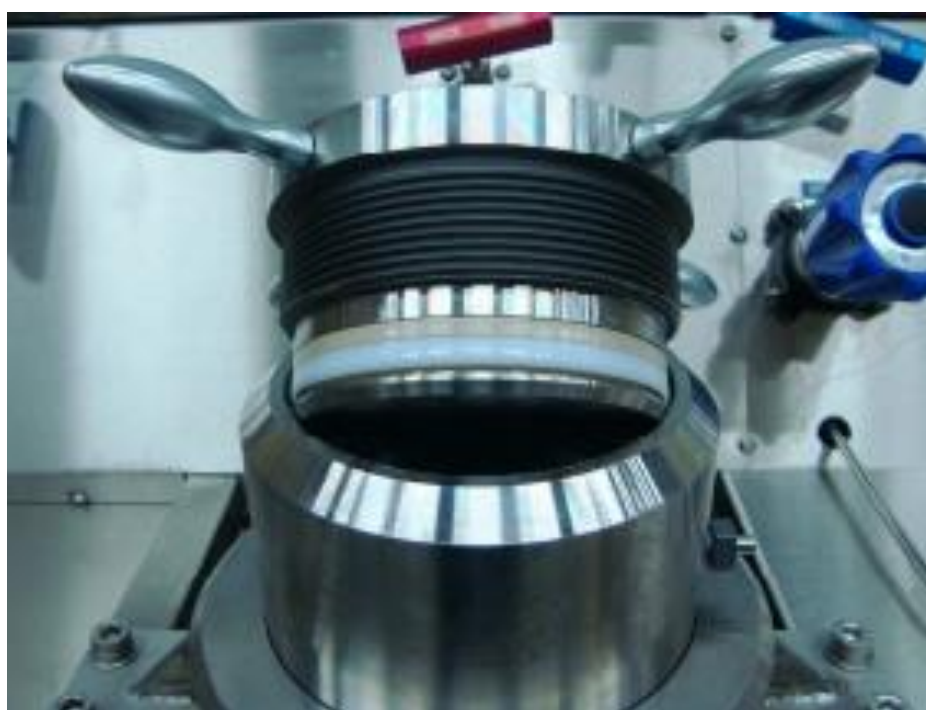


Figure A7 : Couvercle spécifique du réacteur.



Figure A8 : Séparateurs.

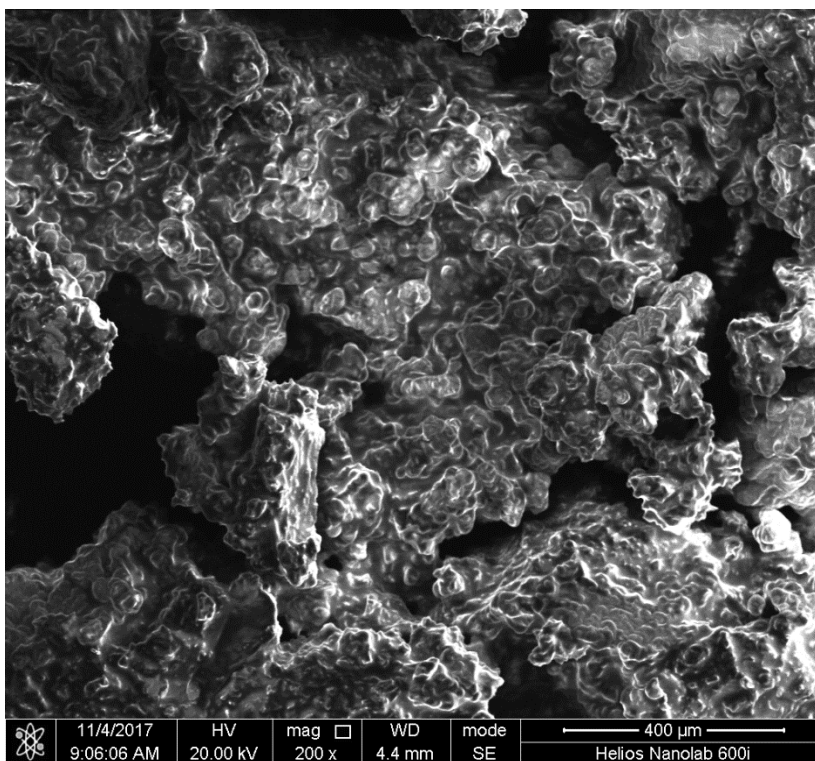


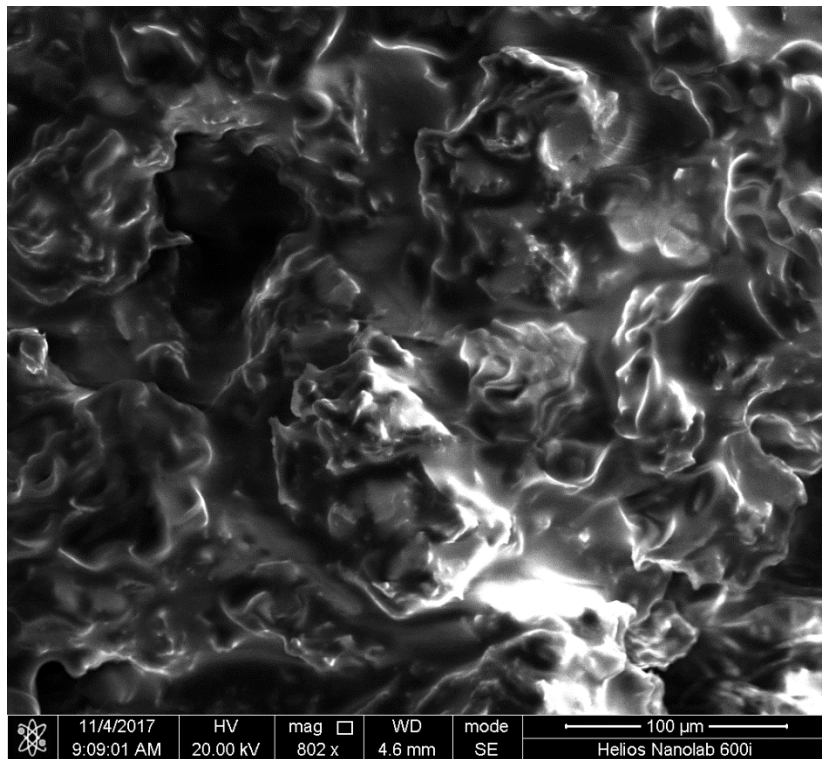
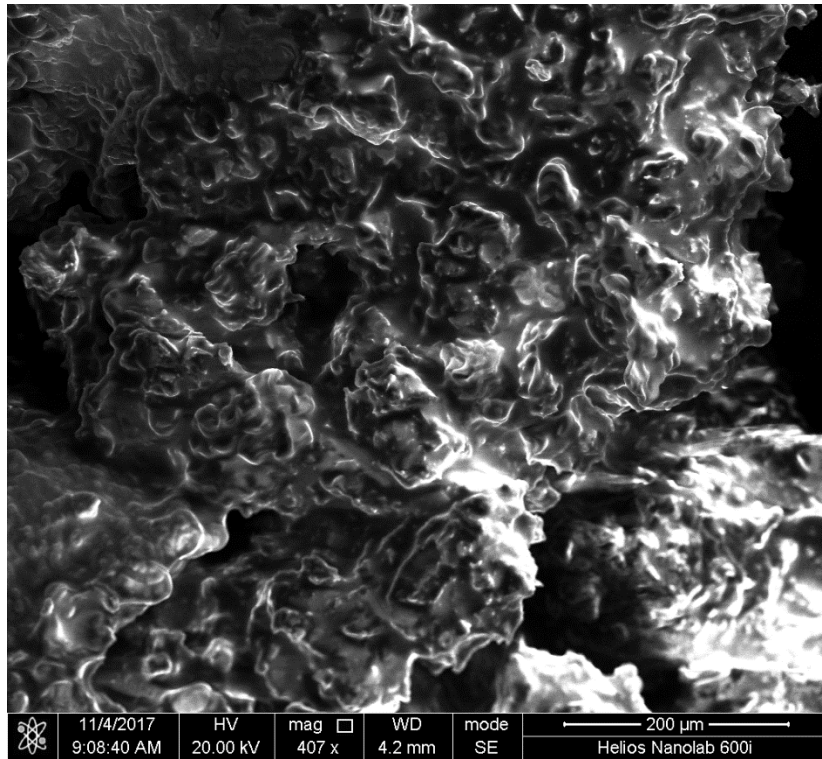
Figure A9 : Refroidisseur.

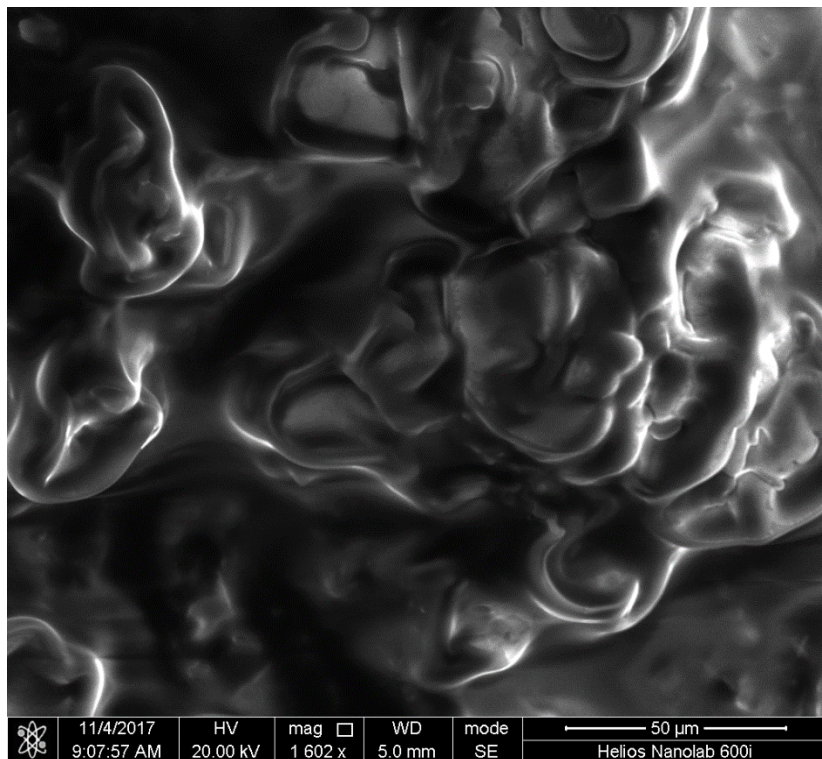
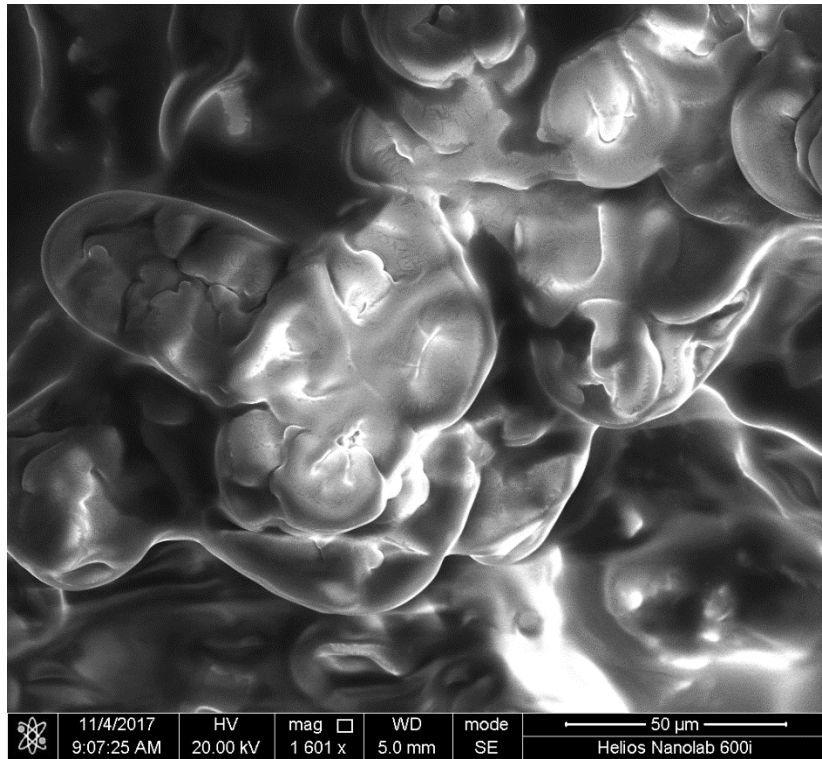
Annexe B

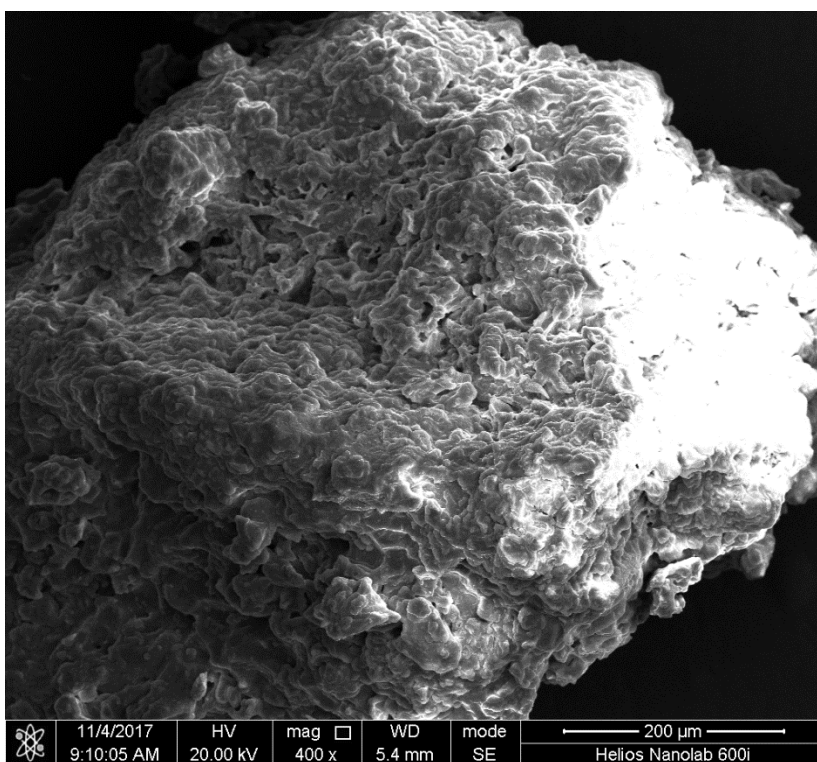
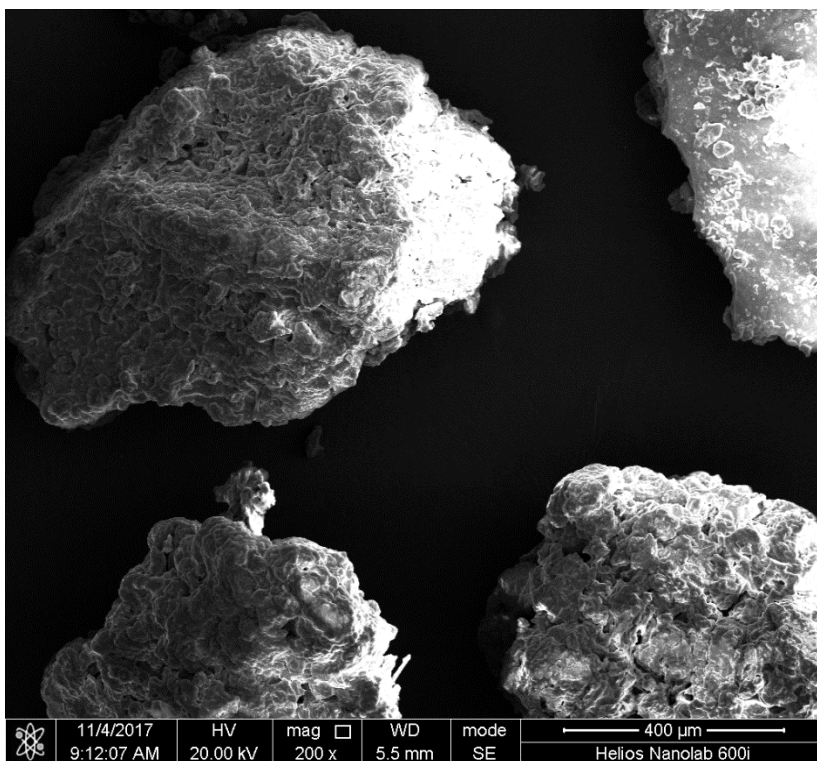
Morphologie par MEB avant et après extraction

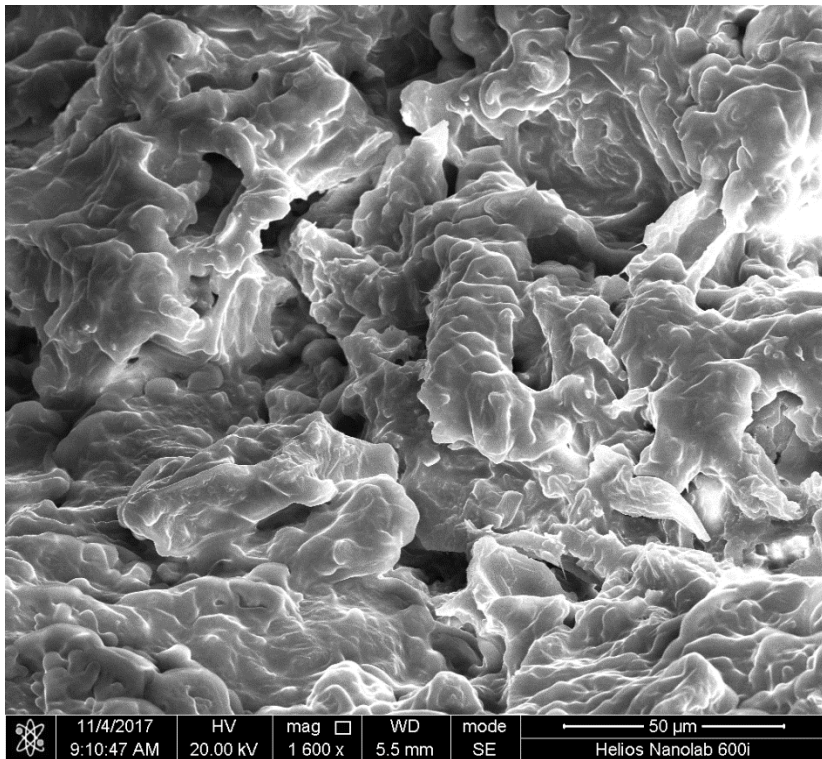
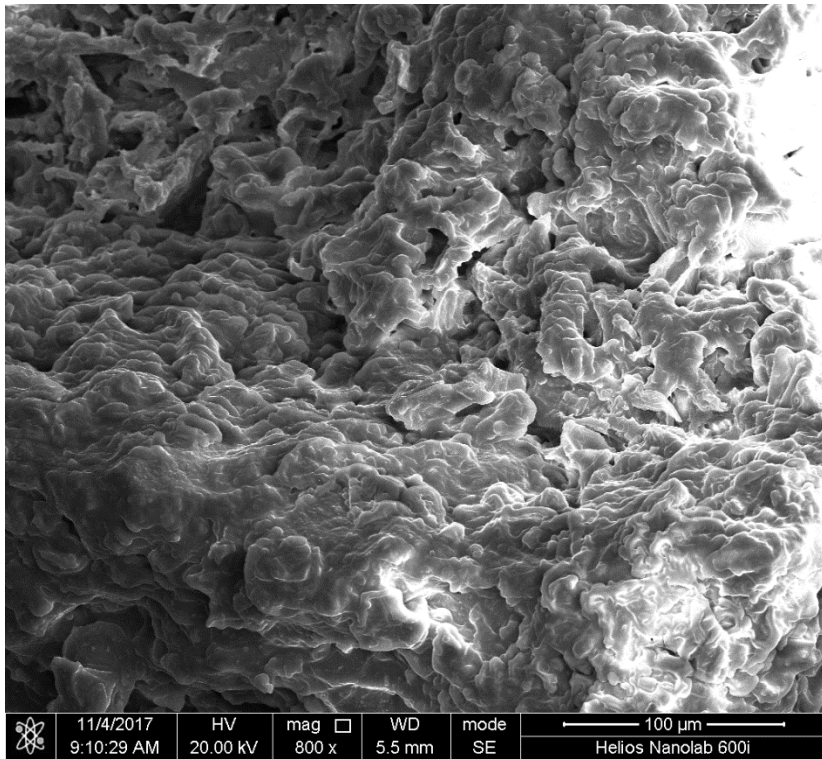
Morphologie par MEB avant extraction à différents échelles :







Morphologie par MEB après extraction à différentes échelles :



Annexe C

Table de Fisher ¹

DF2	$\alpha = 0.05$																		
DF1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	Inf
1	161.45	199.5	215.71	224.58	230.16	233.99	236.77	238.88	240.54	241.88	243.91	245.95	248.01	249.05	250.1	251.14	252.2	253.25	254.31
2	18.513	19	19.164	19.247	19.296	19.33	19.353	19.371	19.385	19.396	19.413	19.429	19.446	19.454	19.462	19.471	19.479	19.487	19.496
3	10.128	9.5521	9.2766	9.1172	9.0135	8.9406	8.8867	8.8452	8.8123	8.7855	8.7446	8.7029	8.6602	8.6385	8.6166	8.5944	8.572	8.5494	8.5264
4	7.7086	6.9443	6.5914	6.3882	6.2561	6.1631	6.0942	6.041	5.9988	5.9644	5.9117	5.8578	5.8025	5.7744	5.7459	5.717	5.6877	5.6581	5.6281
5	6.6079	5.7861	5.4095	5.1922	5.0503	4.9503	4.8759	4.8183	4.7725	4.7351	4.6777	4.6188	4.5581	4.5272	4.4957	4.4638	4.4314	4.3985	4.365
6	5.9874	5.1433	4.7571	4.5337	4.3874	4.2839	4.2067	4.1468	4.099	4.06	3.9999	3.9381	3.8742	3.8415	3.8082	3.7743	3.7398	3.7047	3.6689
7	5.5914	4.7374	4.3468	4.1203	3.9715	3.866	3.787	3.7257	3.6767	3.6365	3.5747	3.5107	3.4445	3.4105	3.3758	3.3404	3.3043	3.2674	3.2298
8	5.3177	4.459	4.0662	3.8379	3.6875	3.5806	3.5005	3.4381	3.3881	3.3472	3.2839	3.2184	3.1503	3.1152	3.0794	3.0428	3.0053	2.9669	2.9276
9	5.1174	4.2565	3.8625	3.6331	3.4817	3.3738	3.2927	3.2296	3.1789	3.1373	3.0729	3.0061	2.9365	2.9005	2.8637	2.8259	2.7872	2.7475	2.7067
10	4.9646	4.1028	3.7083	3.478	3.3258	3.2172	3.1355	3.0717	3.0204	2.9782	2.913	2.845	2.774	2.7372	2.6996	2.6609	2.6211	2.5801	2.5379
11	4.8443	3.9823	3.5874	3.3567	3.2039	3.0946	3.0123	2.948	2.8962	2.8536	2.7876	2.7186	2.6464	2.609	2.5705	2.5309	2.4901	2.448	2.4045
12	4.7472	3.8853	3.4903	3.2592	3.1059	2.9961	2.9134	2.8486	2.7964	2.7534	2.6866	2.6169	2.5436	2.5055	2.4663	2.4259	2.3842	2.341	2.2962
13	4.6672	3.8056	3.4105	3.1791	3.0254	2.9153	2.8321	2.7669	2.7144	2.671	2.6037	2.5331	2.4589	2.4202	2.3803	2.3392	2.2966	2.2524	2.2064
14	4.6001	3.7389	3.3439	3.1122	2.9582	2.8477	2.7642	2.6987	2.6458	2.6022	2.5342	2.463	2.3879	2.3487	2.3082	2.2664	2.2229	2.1778	2.1307
15	4.5431	3.6823	3.2874	3.0556	2.9013	2.7905	2.7066	2.6408	2.5876	2.5437	2.4753	2.4034	2.3275	2.2878	2.2468	2.2043	2.1601	2.1141	2.0658
16	4.494	3.6337	3.2389	3.0069	2.8524	2.7413	2.6572	2.5911	2.5377	2.4935	2.4247	2.3522	2.2756	2.2354	2.1938	2.1507	2.1058	2.0589	2.0096
17	4.4513	3.5915	3.1968	2.9647	2.81	2.6987	2.6143	2.548	2.4943	2.4499	2.3807	2.3077	2.2304	2.1898	2.1477	2.104	2.0584	2.0107	1.9604
18	4.4139	3.5546	3.1599	2.9277	2.7729	2.6613	2.5767	2.5102	2.4563	2.4117	2.3421	2.2686	2.1906	2.1497	2.1071	2.0629	2.0166	1.9681	1.9168
19	4.3807	3.5219	3.1274	2.8951	2.7401	2.6283	2.5435	2.4768	2.4227	2.3779	2.308	2.2341	2.1555	2.1141	2.0712	2.0264	1.9795	1.9302	1.878
20	4.3512	3.4928	3.0984	2.8661	2.7109	2.599	2.514	2.4471	2.3928	2.3479	2.2776	2.2033	2.1242	2.0825	2.0391	1.9938	1.9464	1.8963	1.8432
21	4.3248	3.4668	3.0725	2.8401	2.6848	2.5727	2.4876	2.4205	2.366	2.321	2.2504	2.1757	2.096	2.054	2.0102	1.9645	1.9165	1.8657	1.8117
22	4.3009	3.4434	3.0491	2.8167	2.6613	2.5491	2.4638	2.3965	2.3419	2.2967	2.2258	2.1508	2.0707	2.0283	1.9842	1.938	1.8894	1.838	1.7831
23	4.2793	3.4221	3.028	2.7955	2.64	2.5277	2.4422	2.3748	2.3201	2.2747	2.2036	2.1282	2.0476	2.005	1.9605	1.9139	1.8648	1.8128	1.757
24	4.2597	3.4028	3.0088	2.7763	2.6207	2.5082	2.4226	2.3551	2.3002	2.2547	2.1834	2.1077	2.0267	1.9838	1.939	1.892	1.8424	1.7896	1.733
25	4.2417	3.3852	2.9912	2.7587	2.603	2.4904	2.4047	2.3371	2.2821	2.2365	2.1649	2.0889	2.0075	1.9643	1.9192	1.8718	1.8217	1.7684	1.711
26	4.2252	3.369	2.9752	2.7426	2.5868	2.4741	2.3883	2.3205	2.2655	2.2197	2.1479	2.0716	1.9898	1.9464	1.901	1.8533	1.8027	1.7488	1.6906
27	4.21	3.3541	2.9604	2.7278	2.5719	2.4591	2.3732	2.3053	2.2501	2.2043	2.1323	2.0558	1.9736	1.9299	1.8842	1.8361	1.7851	1.7306	1.6717
28	4.196	3.3404	2.9467	2.7141	2.5581	2.4453	2.3593	2.2913	2.236	2.19	2.1179	2.0411	1.9586	1.9147	1.8687	1.8203	1.7689	1.7138	1.6541
29	4.183	3.3277	2.934	2.7014	2.5454	2.4324	2.3463	2.2783	2.2229	2.1768	2.1045	2.0275	1.9446	1.9005	1.8543	1.8055	1.7537	1.6981	1.6376
30	4.1709	3.3158	2.9223	2.6896	2.5336	2.4205	2.3343	2.2662	2.2107	2.1646	2.0921	2.0148	1.9317	1.8874	1.8409	1.7918	1.7396	1.6835	1.6223
40	4.0847	3.2317	2.8387	2.606	2.4495	2.3359	2.249	2.1802	2.124	2.0772	2.0035	1.9245	1.8389	1.7929	1.7444	1.6928	1.6373	1.5766	1.5089
60	4.0012	3.1504	2.7581	2.5252	2.3683	2.2541	2.1665	2.097	2.0401	1.9926	1.9174	1.8364	1.748	1.7001	1.6491	1.5943	1.5343	1.4673	1.3893
120	3.9201	3.0718	2.6802	2.4472	2.2899	2.175	2.0868	2.0164	1.9588	1.9105	1.8337	1.7505	1.6587	1.6084	1.5543	1.4952	1.429	1.3519	1.2539
Inf	3.8415	2.9957	2.6049	2.3719	2.2141	2.0986	2.0096	1.9384	1.8799	1.8307	1.7522	1.6664	1.5705	1.5173	1.4591	1.394	1.318	1.2214	1

¹ <https://www.statology.org/how-to-read-the-f-distribution-table>.

Table de Student :

	Risque 5%	Confiance 95%
DDL	t (crit)	t (crit)
1	12.70	63.66
2	4.30	9.93
3	3.18	5.84
4	2.78	4.60
5	2.57	4.03
6	2.45	3.71
7	2.37	3.50
8	2.31	3.36
9	2.26	3.25
10	2.23	3.17
11	2.20	3.11
12	2.18	3.06
13	2.16	3.01
14	2.15	2.98
15	2.13	3.95
16	2.12	2.92
17	2.11	2.90
18	2.10	2.98
19	2.09	2.86
20	2.08	2.85

Annexe D

Article Scientifique

Accepted Manuscript

Title: Supercritical CO₂ extraction of oil from
Crushed Algerian olives

Authors: Abdelber Belbaki, Wahida Louaer,
Abdeslam-Hassen Meniai



PII: S0896-8446(17)30445-X

DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.supflu.2017.08.005>

Reference: SUPFLU 4013

To appear in: *J. of Supercritical Fluids*

Received date: 30-6-2017

Revised date: 6-8-2017

Accepted date: 7-8-2017

Please cite this article as: Abdelber Belbaki, Wahida Louaer, Abdeslam-Hassen Meniai, Supercritical CO₂ extraction of oil from Crushed Algerian olives, The Journal of Supercritical Fluids <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2017.08.005>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

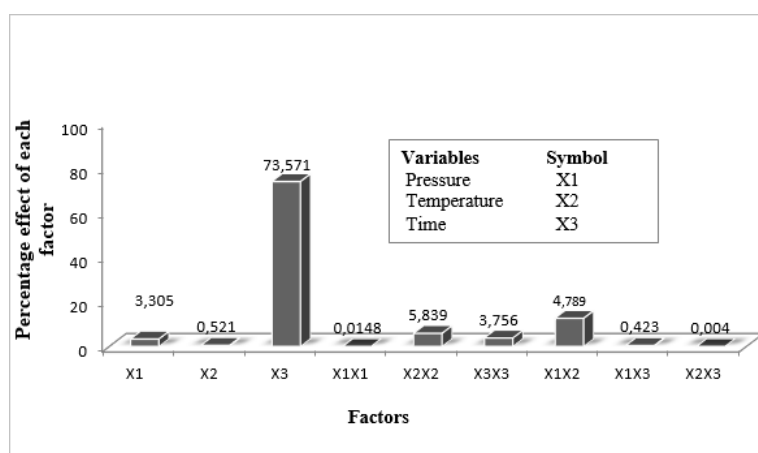
Supercritical CO₂ extraction of oil from Crushed Algerian olives

Abdelber Belbaki^{1,2}, Wahida Louaer¹, Abdeslam-Hassen Meniai^{1,*}

¹ Laboratoire de l'Ingénierie des Procédés de l'Environnement, Université Salah Bounider Constantine 3, Algeria

² Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques-CRACP-BP 384, Zone Industrielle Bou-Ismaïl RP 42004 Tipaza, Algérie.

Graphical Abstract



Pareto's Plot for significance factors identification

Highlights

- Olive crushing was worth with a double yield with supercritical CO₂ extraction;
- The supercritical oil extraction from local olive was effective at the considered;
- A maximum yield of 33.53 % was reached by supercritical CO₂ oil extraction
-

Abstract

Extraction of oil from Algerian crushed olive fruits was carried out using supercritical CO₂. The effect of operating parameters such as pressure, temperature and extraction time on the yield of the extraction process was investigated. Positive effects of extraction time and pressure were shown, contrarily to the operating temperature effect, which was not significant.

A second order polynomial was used to optimize the olive oil extraction yield as a function of the three considered operating parameters and an optimal value of 32.81 wt% was obtained at 300 bar, 60°C and 180 min and was very close to the

experimentally obtained yield of 33.35 wt% at the same operating conditions.

Fatty acid compositions were obtained using Fatty Acid Methyl Ester (FAME) analysis method and the composition was found to be similar to that of virgin olive oil, with Oleic acid as the major component.

Keywords: SupercriticalCO₂; Olive oil; Fatty acids; Extraction yield; RSM.

1. Introduction

Oils are complex mixtures of several lipids, namely fatty acids, fatty acid esters, mono, di and triglycerides (up to 99 wt%) and other compounds with minor percentages[1]. They are of great interest in medical fields and food applications[2].

For thousands of years the widely used oil has been from Olive in the Mediterranean Countries due to the climatic conditions and soil nature in this region[3,4]. Its composition is not limited to saturated and unsaturated fatty acids only but also involves antioxidants like E vitamin and phenolic compounds. This has increased the Mediterranean people's interest towards this substance up to an

*Corresponding Author: abdeslam.menai@univ-constantine3.dz Or: menai@yahoo.fr

extent to consider it as characterized by a low incidence of coronary heart diseases and by a good prevention of some cancers[5]. In fact regarding the fatty acids, the oleic acid is the dominant compound with a maximum acidity of 1 g/100 g for extra virgin olive oil and up to 3.3 g/100 g for other edible olive oils. This composition has led to important health and prevention benefits, boosting worldwide needs for the olive oil. This has been a stimulating factor for many countries which started to invest in the cultivation of olive tree and the development of new products[4].

In fact Algeria is one of the great olive oil producers, classified 9th in the world. Giuffrè[6], Italiana[7] and Lainer[8] reported different studies on the characterization of the Algerian olive from different varieties.

Traditionally, the oil extraction was mainly carried out by mechanical pressing. With time, this has evolved to the extraction by means of organic solvents such as Chloroform, Hexane, Acetone, etc. However, this process is time consuming and involves great amounts of solvent to achieve reasonable extraction yields. Its other disadvantage is that residual solvent traces still remain in the oil and may have bad

effects on the human health as well as on the environment. These facts have encouraged the development of new processes such as Supercritical Fluid Extraction which can be regarded as a green and a friendly route to produce oils from solid matrices and upon which the present study is mainly based.

The extraction by means of supercritical fluids has been developed for many years, using mainly supercritical carbon dioxide CO₂ as fluid for various applications[9,10], although in few cases other supercritical fluids such as Ethane[11]and Propane[12] have been used for lipid

extractions and have shown better extraction yields than supercritical CO₂. However the CO₂ properties such as its non- toxicity, non-polarity, non-flammability, moderate critical properties, abundance and a low cost, have made it the most suitable and widely used as a supercritical fluid in the great majority of processes[13].

In fact, a great number of supercritical CO₂ applications on different matrices were carried out and reported in the literature. As far as the extraction of oil from vegetable resources such as seeds, fruits or plants, one can cite the works of Stahl[14], Roy[15], Reverchon[16]and Corzzini[17]. Whereas, Mubarak[18] and Pascal[19] have applied this process on microalgae and animal tissues for lipid extraction.

Consequently, the present study deals with the supercritical CO₂ extraction of oil from Algerian crushed olive fruits. The effects of pressure, temperature and extraction time were also investigated using response surface methodology (RSM). The fatty acid of the extracted olive oil was analysed by Gas Chromatography (GC).

2. Material and methods

2.1 Materials

2.1.1 Olive fruits

Olives from a local most widespread variety known as '*Chemlal*', were collected during the harvest period lying between December and March from the region of Constantine in the north-east of Algeria. The small size fruits and late ripening are the important characteristic of this variety. It is always cultivated along with other cultures so ensuring pollination.

2.1.2 Experimental apparatus

Supercritical carbon dioxide extraction has been carried out in a 2 Litters extraction vessel using supercritical fluid extraction system (Separex-4219) supplied by Separex

(Champigneulle, France). The system included a high-pressure pump, heat exchangers, an extractor, a chiller and two separators.

A cylindrical stainless steel basket 25 and 10 cm of height and diameter, respectively has been used for easy loading and unloading of the extraction vessel. This later was covered by filter mesh screens at both ends of the cylinder to prevent any carry-over of particles with supercritical phase. Carbon dioxide was used as supercritical solvent. It was 99.9% pure and was obtained in pressurized deep tube cylinders supplied by Air Liquide, Algeria.

2.2 Methods

2.2.1 Moisture content determination

The water content of olive fruits was determined by means of an Electronic Moisture Analyzer which was the IR-60 model supplied by Denver Instruments GmbH, Gottingen, Germany. A given mass of olive fruits was put on the analyser disc to undergo drying at a temperature of

105°C up to a constant mass.

2.2.2 Sample pre-treatment

Only fresh olive fruits without damage were selected and water washed to eliminate any impurities. To remove water content from olives, the samples were dried in a circulating air oven at 40°C for 24 hours to prevent emulsion effect and to accurately calculate the oil extraction yield. The fruits were then completely milled using a knife mill (House grinder), leading to an olive paste.

2.2.3 Supercritical Carbon Dioxide (SC-CO₂) Extraction

At the beginning, the extraction vessel including the sample basket was purged with CO₂ for 2 min to remove any moisture or impurities from the pump filter. A mass of 50 grams of olive paste was used in each experiment and was placed in the extractor cylinder covered by filter mesh screens at both ends of the cylinder to prevent any carry-over of particles. The cylinder was then introduced into the temperature-controlled-chamber. The CO₂ was continuously pumped into extractor with a fixed flow rate of 50 g/min. The supercritical carbon dioxide penetrated the vegetable matrix from

the bottom of the extractor. The charged supercritical phase went into two separators in series that provided a pressure drop so that the CO₂ separated from the transported olive oil and was recycled in favour of the cost of the process. The use of two separators rather than just one was not aiming any fractionation of the extracts but was mainly guided by the fact that in general with a single separator solvent drops may form and entrain amounts of the extract, hence a decrease of the extraction yield. Also the collection of the extracted volatile compounds is difficult and is inevitably accompanied by a selective loss of a certain mass of these compounds during the depressurization steps. In fact the solvent is saturated with the extract at the pressure of the separator before being stripped during the depressurization entraining selectively the more volatile components. To avoid this problem, it is suggested to collect the extracts semi continuously using several separators in series[20]. The temperature and the pressure in the separators were around 30°C and 70 bar, respectively. There were purposely set slightly below the critical temperature and pressure in order to enable CO₂ revert back to the gaseous state and in the mean time discourage the entrainment of volatile components present in the extract.

The olive oil was collected into a vial at the outlet of separators. In all experiments, the supercritical SC- CO₂ extraction was done in a dynamic mode. The yield was defined as the ratio of the mass of the oil extracted to the total mass of original olive pastes used in each experiment. The operating conditions range were [40-60°C] and [200-300 bar] for temperature and pressure, respectively. The extraction time was varied between 30 min and 180 min.

2.2.4 Fatty acid Analysis

For fatty acid analysis, a methylation was necessary before passing the extract in the CPG system. Then a mass of 20 mg of olive oil sample was mixed with 1 ml of TBME (Tert Butyl Methyl Ether) giving a solution from which a volume of 100 µl was taken and mixed with 50 µl of TMSH (Trimethyl Sulphonium Hydroxide). After agitation, a volume of 1 µL was injected using an automatic sampler into a GC-3800 chromatograph (Varian), with FID detector. The GC was equipped with a CP Select capillary column (50 m x 0.25 mm x 0.25 µm). The initial oven temperature was maintained at 185 °C for 40 min, increased by a rate of 15 °C/min up to 250 °C and then kept constant for 10 min. The injector and detector temperatures were set at 250 °C. The fatty acid

methyl ester (FAME) proportions were identified by comparison with the retention times of a known standard mixture of FAME (Supelco, USA), used as an external standard. The results are shown in a next section.

2.2.5 Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis

Scanning electron microscopy (SEM) analysis technique was used to examine any changes in the surface morphology of olives due to the extraction process. A priori, samples of ground olive particles before and after extraction with supercritical CO₂ were passed through a Quanta-250 scanning electron microscope supported by FEI system at low vacuum mode and the resulting images are presented in a next section.

2.2.6 Experimental Design

This study was based on a three-factor, three-level Box Behnken design. This design is adapted for exploration of response surfaces and constructs a second order polynomial model, thus helping in optimizing the process using a small number of experimental runs. The design consists of replicated centre points and the set of points lying at the midpoints of each edge of the multidimensional cube that determines the region of interest. In a system with three independent variables X_1 , X_2 and X_3 , the relation between the response and these variables can be expressed mathematically by the following quadratic polynomial equation:

Where Y is the estimate response, a_0 is a constant, a_1 , a_2 and a_3 are linear coefficients, a_{12} , a_{13} and a_{23} are interaction coefficients between the factors and a_{11} , a_{22} and a_{33} are the quadratic coefficients.

A multiple regression analysis was performed to obtain the coefficients, which can be used to estimate the response. The operating conditions of pressure, temperature and extraction time are regrouped in Table 1 showing their respective values. The statistical software MINITAB 16 was used to fit the experimental design, data analysis, and quadratic model

3. Results and discussion

3.1 Samples structure using Scanning Electron Microscopy (SEM)

Clearly Figures 1a & b show different images corresponding to the before and after extraction cases, respectively. Figure 1a corresponding to the solid before extraction shows rough and uneven surface characterized by a series of layers uniformly

impregnated by the oil. However the SEM monograph of Figure 1b, corresponding to the solid after extraction, clearly shows a sort of cracking of the layers, justifying the involved high pressures for better oil extraction yields.

3.2 Total oil extraction yield and moisture content

The moisture content of olives was found to be approximately 28% using the Electronic Moisture Analyser. Twenty-four hours were necessary to remove this moisture in circulating air oven at a temperature of 40 °C.

The statistical combinations of independent variables Pressure, Temperature and extraction Time that are denoted as X_1 , X_2 and X_3 , respectively, with the encoded values and the measured yield Y (%) are given in Table 2.

The results shown in Table 2 confirm an effective extraction of olive oil using supercritical carbon dioxide at different conditions of pressure, temperature and extracting time.

The maximum yield obtained was 33.35 wt% at 300 bar, 60 °C and 180 min. This value compares reasonably well with the yields usually obtained for an oil extraction by traditional methods consisting of cold pressing [6] or by Soxhlet extraction [21] of olive fruits, from the same *Chemlal* variety. Therefore, quantitatively the obtained extracting yields of olive oil shown in Table 2 were favourably within the range usually obtained by means of traditional techniques, confirming the reliability of the results. Also in order to assess the extraction performance, a comparison was made with the work of Bengana et al [21] who considered the extraction of olive oil from Algerian *Chemlal* variety by Soxhlet using Hexane as solvent and achieved a yield between 33 and 42% in different months during the harvesting period. Therefore the maximum yield of 33.35 wt% is within the range (33% - 42%).

As reported in the literature, Al Otoom *et al.* [22] extracted oil from uncrushed olives with a maximum yield of 12.3 wt%, a value which is well below the 21.89 wt% obtained in the present study from crushed olives at similar conditions of 240 bar, 60 °C and 150 min of pressure temperature and extraction time respectively. This is an important result which justifies the approach adopted in this work and which may have an important economical impact, considering the oil value locally.

3.3 GC-FID analysis

The results shown in Figure 2 and in Table 3 were in good agreement with previous works reported in [23,24]. Generally, an effective partition of fatty acids was observed, in order of appearance from C₁₆ to C_{20:1}. Oleic acid was the major component present in the olive oil extracted by supercritical CO₂ with a percentage of 59% followed by Linoleic, Palmitic and Vaccenic acids with 20, 13 and 3%, respectively. Other minor compounds like Stearic, Elaidic, Linolenic, Eicosenoic, Palmitoleic and Margaroleic acids with low percentages were also present.

Qualitatively Table 4 shows that the extracted oil from the considered variety by means of the supercritical carbon dioxide extraction had a very similar composition as the oil obtained by traditional means like cold pressing [6] and which is known to be of a very high quality. This is a very encouraging factor. However, absence of some components was due to the unavailability of the adequate standards.

3.4 Statistical analysis

In this work, the response surface methodology (RSM) was applied to assess individual and interactive effects of the three main independent parameters (Pressure, Temperature and Extraction Time) on the extracting yield of olive oil using supercritical-CO₂.

Based on the results shown in Table 2 and using Minitab 16 software, an empirical relationship between the response and the independent parameters was obtained and expressed by the following second-order polynomial equation (Eqn. 2):

$$Y = 16.0433 + 2.1525 x_1 - 0.8550 x_2 + 10.1525 x_3 + 4.1950 x_1 x_2 + 0.770 x_1 x_3 - 0.0800 x_2 x_3 - 0.144167 x_1^2 + 2.8608 x_2^2$$

Table 5 shows the results of the quadratic response surface model through analysis of variance (ANOVA) study. To assess the reliability of the obtained polynomial, the correlation factor R² was expressed by plotting the predicted values versus the observed ones. From Figure 3 and Table 5 the R²-value was found to be R² = 0.973 (97.3%) indicating a good agreement between the experimental and predicted response values and a good fit by the quadratic model given by Equation 2 for the prediction of olive oil extraction yield. Adjusted R² (Adj-R²) is also a measure of goodness fit and a correction for the determination coefficient R²-value for the number of terms in the

model. It was found to be 0.927, which is close to the R^2 -value[10,25]. The Fisher variation ratio F-value indicates how well the factors describe the data variation around its mean. It represents the ratio between the mean square of the model and the residual error. If the model predicts well the experimental results, the F-value must be higher than the tabulated value of F-distribution for a certain number of degrees of freedom in the model at a level of significance α

($\alpha = 5\%$). In the present case, F-value was found equal to 20.72 which is much greater than the tabular F-value ($F_{\text{tabular}} = 4.77$). This result confirms once more that the quadratic model was adequate at a very high degree and shows that the combinations treatment was greatly significant[26].

3.5 Parameter effects

In order to identify the significant factors considered in the present study, the Pareto plot was used and shown in Figure 4 the analysis of which indicated that the extraction time (X_3) had the predominant individual effect on the yield of olive oil extraction by supercritical CO_2 . The pressure (X_1) had less effect followed by a minor and negligible effect of temperature (X_2). However, the interaction of pressure and temperature had the highest effect on oil extraction compared to other interactions of pressure and temperature with time. Also the quadratic factors such as temperature and time had important effect compared to pressure. These results were confirmed by ANOVA Analysis which indicated to what extent the resulting quadratic model and its individual parameters (pressure, temperature and extraction time) contributed to the comprehension of the involved process also to assess the quality through the value of the olive oil extraction yield. This was investigated by plotting the yield as a function of each factor holding the other ones at the central point.

3.5.1 Individual effect

3.5.1.1 Effect of pressure

Figure 5 shows the effect of pressure on the yield of olive oil at a fixed temperature (50°C) and an extraction time of 105 min where it can be seen that an increase of the extracting pressure led to an increase of the quantity of the oil recovered from the olive paste. For instance, at a pressure of 200 bar approximately 14% of the cumulative olive oil was extracted and increasing the pressure up to 300 bar, led to a yield value of 18%.

At a low pressure, the extracted amount of olive oil was much smaller due to the low

solubility of oil. At this level, the CO₂ had a relatively low density and hence a lower solvency. By increasing the extracting pressure, the density of SC-CO₂ increased leading to a higher solvent power, hence an increase in the solubility of the oil, resulting in an important olive oil extracting yield. This can be explained by the fact that the density increase encouraged the formation of solvation cages by CO₂ around the molecules of fats enhancing the oil solubility. Similar results were reported in [15,22,27–29].

3.5.1.2 Effect of extraction time

Figure 6 shows the plot of the extraction yield versus the extraction time at 250 bar and 50 °C where an increase of extraction time, increased the extraction yield of olive oil. For instance 60 min extraction time enabled an oil recovery of 9% whereas after 120 and 180 min the achieved

yields were 18 and 24%, respectively. This confirms the great effect of extraction time on the yield [27,30,31].

3.5.1.3 Effect of temperature

The effect of temperature was studied at the central point of pressure (250 Bar) and extraction time (105 min) as shown in Figure 7 where the temperature seemed to have no significant effect. At a temperature of 40 °C the cumulative yield of olive oil was in its maximum value approximately 20%. With an increase in temperature up to 54 °C, the yield of oil decreased to its minimum value of 15.5%. After that, the yield increased markedly with temperature increase up to 60 °C.

3.5.2 Interaction effect

The response surface methodology leads to contour plots in order to investigate the variation of the oil extraction yield with the interaction of two factors keeping the third at its central level, as shown in the following Figures 8.

Figure 8a shows the effect of Pressure-Temperature interactions for an extracting time of 105 min where a maximum yield of more than 24% was obtained at high pressure and temperature, whereas lower percentages are obtained at low or high values of either parameter *i.e.* Pressure or Temperature. For instance at low pressures and high temperatures the yield was less than 12%, whereas at high pressures and low temperatures the yield was higher and between 16-18%.

Figure 8b illustrates the interaction effect of Pressure and Extraction time at a

temperature of 50°C. It indicates that the high levels of each parameter allowed an extraction of more than 25% of olive oil. Decreasing temperature or extraction period led to a decrease in oil yield.

From Figure 8c, for 250 bar a maximum yield extracted was at low and high temperature (more than 25%). Approaching to the central value of temperature (50°C), the yield decreased.

As mentioned above, the maximum yield obtained was 33.35 wt% at 300 bar, 60 °C and 180 min i.e. at the three considered maximum factor values, respectively. This may be explained by the fact that the decrease in the solvent power due to the temperature increase was easily overcome by the increase in the solute vapor pressure and hence the temperature effect was predominant over that of the pressure, in agreement with the results reported by Al-Otoom et al[22]. However the obtention of the optimum yield value at the highest level of all the factors would suggest running further experiments at higher levels to confirm it was an absolute maximum yield value. Unfortunately the used machine for the supercritical CO₂ extraction of olive oil did not allow technically the use of higher temperature and pressure values.

Therefore the obtained results are related to the considered factors range values.

4. Conclusion

Supercritical CO₂ has proven to be effective in the extraction of crushed olive oil. The results have also shown that it is economically worth using crushed rather uncrushed olives, since the yield has been nearly doubled.

The modeling of this process with Box-Behnken of RSM led to a quadratic model which has successfully predicted the extraction yield and its variations with pressure, temperature and extraction time as well as with their interactions. This was confirmed by the high correlation coefficients R² and adjusted R² estimated (0.973 and 0.927 respectively).

Extraction time and pressure were found to have the major effects on the extraction yield, compared to temperature.

CPG analysis showed a high fraction of oleic acid (C_{18:1}) by 59%, followed by Linoleic, Palmitic, Vaccenic, Stearic, Elaïdic, Linolenic, Eicosenoic, Palmitoleic and Margaroleic acids.

Acknowledgment

The authors would like to thank Professor Carlos Vaca-Garcia, vice head of the agro-industrial chemistry laboratory, ENSIACET, Toulouse, France, for his kind help for carrying out the oil extracts analyses.

References

- [1] Ö. Güçlü-Üstündag, F. Temelli, *Correlating the solubility behavior of minor lipid components in supercritical carbon dioxide*, J. Supercrit. Fluids. 31 (2004) 235–253. doi:10.1016/j.supflu.2003.12.007.
- [2] N.T. Dunford, F. Temelli, *Extraction of Phospholipids from Canola with Supercritical Carbon Dioxide and Ethanol*, 72 (1995) 1009–1015.
- [3] Dimitrios Boskou, ed., *Olive Oil: Minor Constituents and Health*, CRS Press; Taylor and Francis Group, USA, 2009.
[https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=5wBUhtX-kt8C&oi=fnd&pg=PP1&dq=Olive+Oil:+Minor+Constituents+and+Health&ots=EMrV_v307MZ&sig=hIYWWqzpKwRcmq46UBLN-xJK2MI&redir_esc=y#v=onepage&q=Olive Oil%3A Minor Constituents and Health&f=false](https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=5wBUhtX-kt8C&oi=fnd&pg=PP1&dq=Olive+Oil:+Minor+Constituents+and+Health&ots=EMrV_v307MZ&sig=hIYWWqzpKwRcmq46UBLN-xJK2MI&redir_esc=y#v=onepage&q=Olive%20Oil%3A%20Minor%20Constituents%20and%20Health&f=false).
- [4] Dimitrios Boskou, ed., *Olive Oil: Chemistry and Technology, SECOND*, AOCS Press, USA, 2006.
[https://books.google.dz/books?id=Nc9VCgAAQBAJ&pg=PR3&dq=Olive+Oil:+Chemistry+and+Technology&hl=fr&sa=X&ved=0ahUKEwjw55rx_sXPAhVBWxoKHYNdDXwQ6AEIHDA#v=onepage&q=Olive Oil%3A Chemistry and Technology&f=false](https://books.google.dz/books?id=Nc9VCgAAQBAJ&pg=PR3&dq=Olive+Oil:+Chemistry+and+Technology&hl=fr&sa=X&ved=0ahUKEwjw55rx_sXPAhVBWxoKHYNdDXwQ6AEIHDA#v=onepage&q=Olive%20Oil%3A%20Chemistry%20and%20Technology&f=false).
- [5] D. Caruso, B. Berra, F. Giavarini, N. Cortesi, E. Fedeli, G. Galli, *Effect of virgin olive oil phenolic compounds on in vitro oxidation of human low density lipoproteins.*, Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. 9 (1999) 102–7.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10464782> (accessed October 6, 2016).
- [6] A.M. Giuffrè, *Analytical characteristics of olive oil produced with three different processes in Algeria*, Riv. Ital. Delle Sostanze Grasse. (2010).
- [7] R. Italiana, *D. Sostanze, S.N. Universit, R.O. Universidade, Analysis of some Algerian virgin olive oils by headspace solid phase micro-extraction coupled to gas chromatography / mass spectrometry*, (2012).
- [8] F. Lincer, R. Laribi, a Tamendjari, L. Arrar, P. Rovellini, S. Venturini, *Olive oils from Algeria : Phenolic compounds , antioxidant and antibacterial activities*, 65 (2014) 1–10.
- [9] O. Boutin, A. De Nadaï, A.G. Perez, J.H. Ferrasse, M. Beltran, E. Badens, *Experimental and modelling of supercritical oil extraction*

- from rapeseeds and sunflower seeds, *Chem. Eng. Res. Des.* 89 (2011) 2477–2484. doi:10.1016/j.cherd.2011.02.032.
- [10] A. Rai, B. Mohanty, R. Bhargava, Supercritical extraction of sunflower oil: A central composite design for extraction variables, *Food Chem.* 192 (2016) 647–659. doi:10.1016/j.foodchem.2015.07.070.
- [11] G. Brunner, S. Peter, On the Solubility of Glycerides and Fatty Acids in Compressed Gases in the Presence of an Entrainer, *Sep. Sci. Technol.* 17 (1982) 199–214. doi:10.1080/01496398208058147.
- [12] E.J.M. Straver, J.L. de Roo, C.J. Peters, J. de Swaan Arons, Phase behaviour of the binary system propane and tristearin, *J. Supercrit. Fluids.* 11 (1998) 139–150. doi:10.1016/S0896-8446(97)00035-1.
- [13] F. Temelli, Perspectives on supercritical fluid processing of fats and oils, *J. Supercrit. Fluids.* 47 (2009) 583–590. doi:10.1016/j.supflu.2008.10.014.
- [14] E. Stahl, E. Schuetz, H.K. Mangold, Extraction of seed oils with liquid and supercritical carbon dioxide, *J. Agric. Food Chem.* 28 (1980) 1153–1157. doi:10.1021/jf60232a023.
- [15] B.C. Roy, M. Goto, T. Hirose, Extraction of Ginger Oil with Supercritical Carbon Dioxide: Experiments and Modeling, *Ind. Eng. Chem. Res.* 35 (1996) 607–612. doi:10.1021/ie950357p.
- [16] E. Reverchon, F. Senatore, Isolation of rosemary oil: Comparison between hydrodistillation and supercritical CO₂ extraction, *Flavour Fragr. J.* 7 (1992) 227–230. doi:10.1002/ffj.2730070411.
- [17] S.C.S. Corzzini, H.D.F.Q. Barros, R. Grimaldi, F.A. Cabral, Extraction of edible avocado oil using supercritical CO₂ and a CO₂/ethanol mixture as solvents, *J. Food Eng.* 194 (2017) 40–45. doi:10.1016/j.jfoodeng.2016.09.004.
- [18] M. Mubarak, A. Shaija, T. V. Suchithra, A review on the extraction of lipid from microalgae for biodiesel production, *Algal Res.* 7 (2015) 117–123. doi:10.1016/j.algal.2014.10.008.
- [19] P. Subra-Paternault, H. ThongDeng, A. Grélard, M. Cansell, Extraction of phospholipids from scallop by-product using supercritical CO₂/alcohol mixtures, *LWT - Food Sci. Technol.* 60 (2015) 990–998. doi:10.1016/j.lwt.2014.09.057.
- [20] M. Perrut, Les applications des fluides supercritiques, 2^{ème} Colloq. Sur Les Fluides Supercritiques. (1991) 11–27.
- [21] M. Bengana, A. Bakhouch, J. Lozano-Sánchez, Y. Amir, A. Youyou, A. Segura- Carretero, A. Fernández-Gutiérrez, Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of Chemlal extra-virgin olive oil, *Food Res. Int.* 54 (2013) 1868–1875. doi:10.1016/j.foodres.2013.08.037.
- [22] A. Al-Otoom, S. Al-Asheh, M. Allawzi, K. Mahshi, N. Alzenati, B. Banat, B.

- Alnimr, Extraction of oil from uncrushed olives using supercritical fluid extraction method, *J. Supercrit. Fluids.* 95 (2014) 512–518. doi:10.1016/j.supflu.2014.10.023.
- [23] K. Bouarroudj, A. Tamendjari, R. Larbat, Quality, composition and antioxidant activity of Algerian wild olive (*Olea europaea* L. subsp. *Oleaster*) oil, *Ind. Crops Prod.* 83 (2016) 484–491. doi:10.1016/j.indcrop.2015.12.081.
- [24] F. Laincer, N. Iaccarino, J. Amato, B. Pagano, A. Pagano, G. Tenore, A. Tamendjari, P. Rovellini, S. Venturini, G. Bellan, A. Ritieni, L. Mannina, E. Novellino, A. Randazzo, Characterization of monovarietal extra virgin olive oils from the province of Béjaia (Algeria), *Food Res. Int.* 89 (2016) 1123–1133. doi:10.1016/j.foodres.2016.04.024.
- [25] M. Khajeh, Optimization of process variables for essential oil components from *Satureja hortensis* by supercritical fluid extraction using Box-Behnken experimental design, *J. Supercrit. Fluids.* 55 (2011) 944–948. doi:10.1016/j.supflu.2010.10.017.
- [26] K. Yetilmezsoy, S. Demirel, R.J. Vanderbei, Response surface modeling of Pb(II) removal from aqueous solution by *Pistacia vera* L.: Box-Behnken experimental design, *J. Hazard. Mater.* 171 (2009) 551–562. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.06.035.
- [27] U. Salgin, O. Döker, A. Çalimli, Extraction of sunflower oil with supercritical CO₂: Experiments and modeling, *J. Supercrit. Fluids.* 38 (2006) 326–331. doi:10.1016/j.supflu.2005.11.015.
- [27] U. Salgin, A. Calimli, B. Zühtü Uysal, Supercritical Fluid Extraction of Jojoba Oil, *Jaocs.* 81 (2004) 293–296. doi:10.1007/s11746-004-0898-3.
- [28] I. Papamichail, V. Louli, K. Magoulas, Supercritical fluid extraction of celery seed oil, *J. Supercrit. Fluids.* 18 (2000) 213–226. doi:10.1016/S0896-8446(00)00066-8.
- [29] A.T. Souza, T.L. Benazzi, M.B. Grings, V. Cabral, E.A. Silva, L. Cardozo-Filho, O.A.C. Antunes, Supercritical extraction process and phase equilibrium of Candeia (*Eremanthus erythropappus*) oil using supercritical carbon dioxide, *J. Supercrit. Fluids.* 47 (2008) 182–187. doi:10.1016/j.supflu.2008.08.001.
- [30] Z. Hou, Y. Zheng, Y. Gao, X. Liu, F. Yuan, G. Liu, Optimization of supercritical carbon dioxide removal of lipid and cholesterol from goat placenta using response surface methodology, *Food Bioprod. Process.* 88 (2010) 298–304. doi:10.1016/j.fbp.2009.12.001.

Captions for Figures

Figure 1: SEM Monographs of solid matrices a) Before extraction; b) After extraction.

Figure 2: CPG Chromatogram of olive oil, extracted by Supercritical CO₂

Figure 3: Comparison of predicted and experimental yield values

Figure 4: Pareto plot

Figure 5: Pressure effect on cumulative olive oil yield

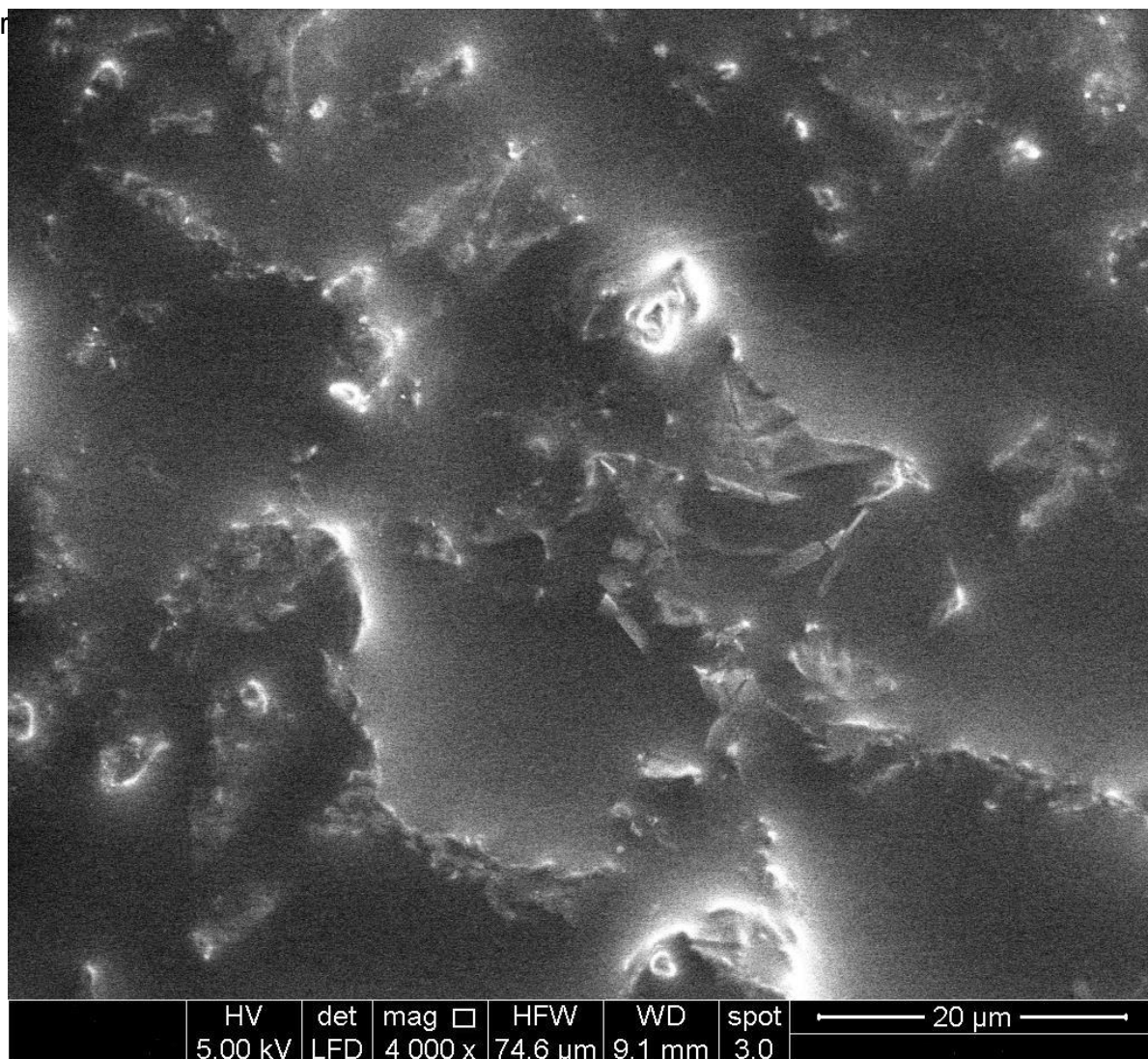
Figure 6: Extraction time effect on cumulative olive oil yield

Figure 7: Temperature effect on cumulative olive oil yield

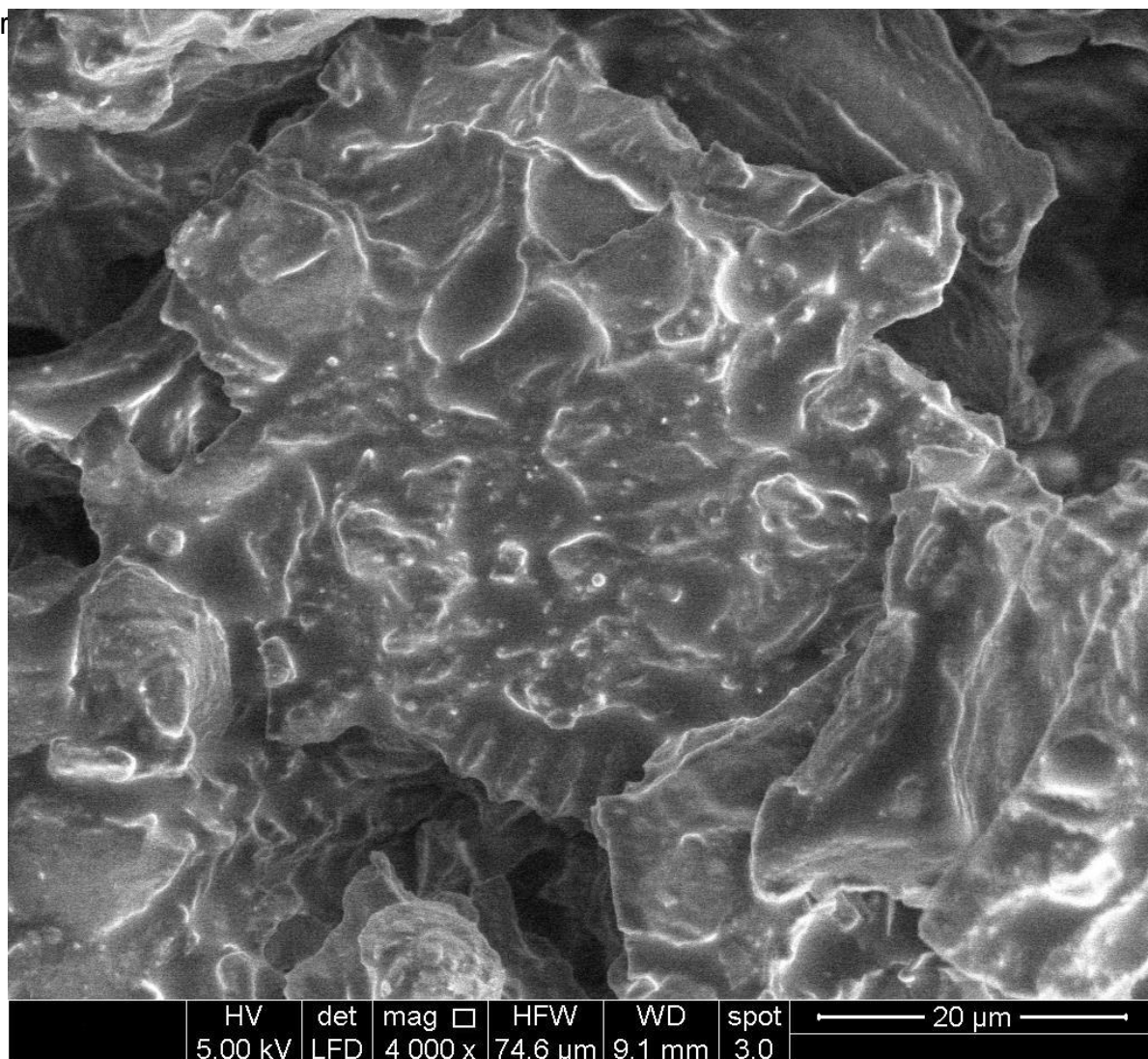
Figure 8: Contour plots of the dependence of olive oil yield (%) on Pressure, Temperature and Extracting time interactions.

Captions for Tables

Fig



Fig



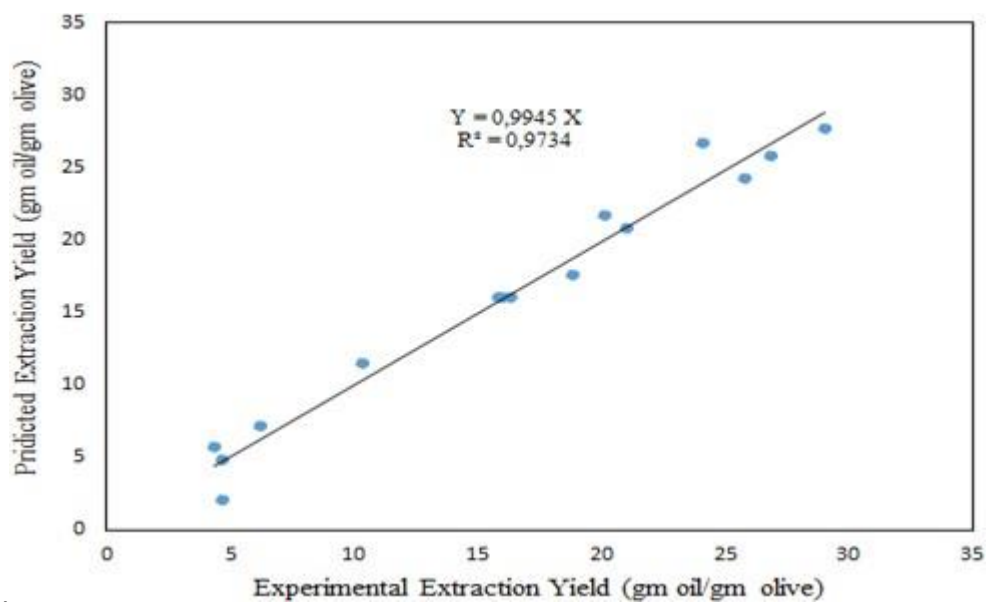
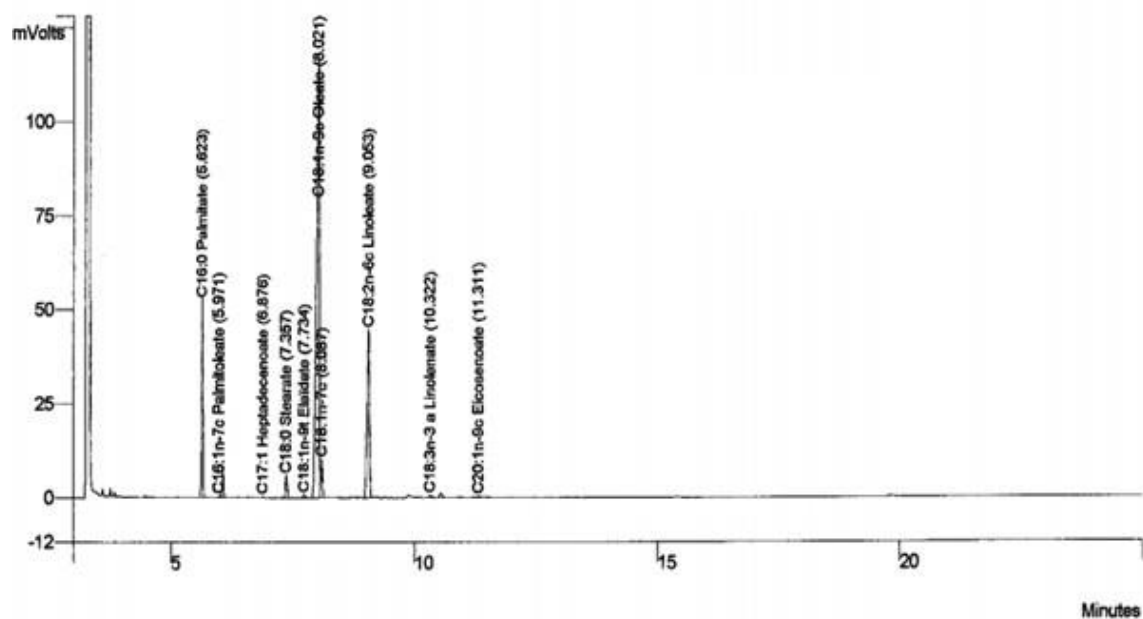
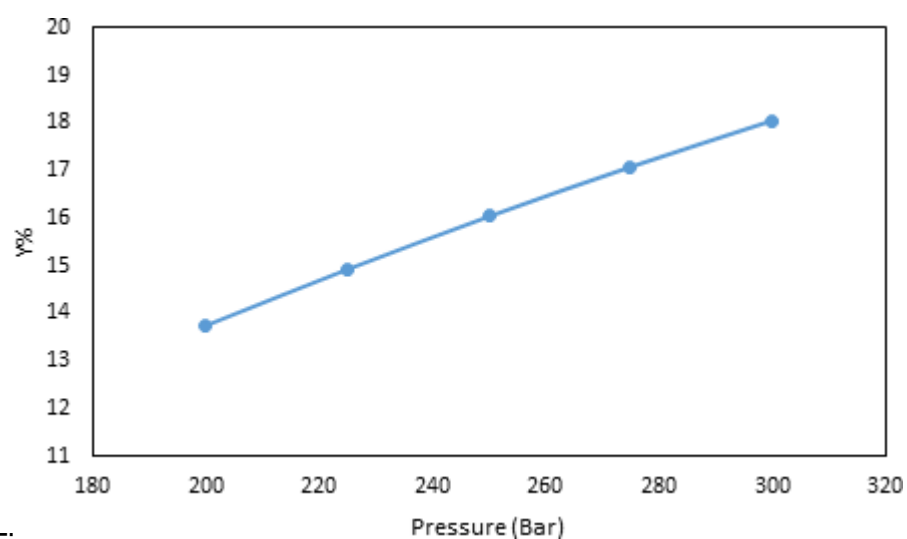
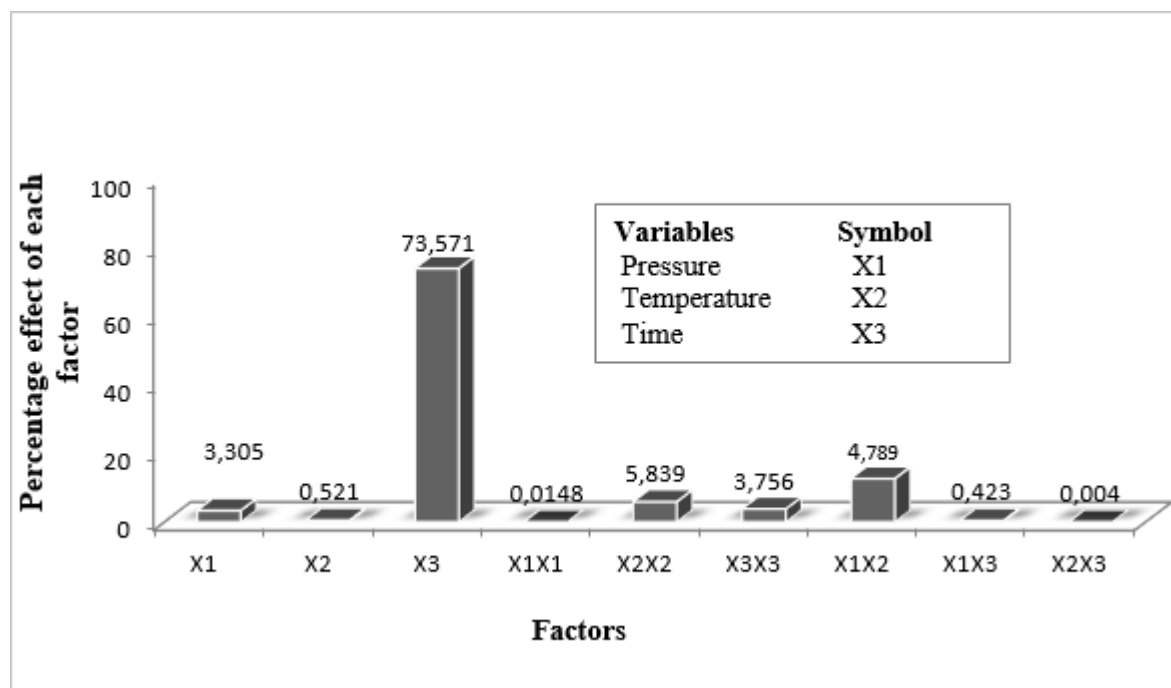


Fig-4

Figr-5



Figr-6

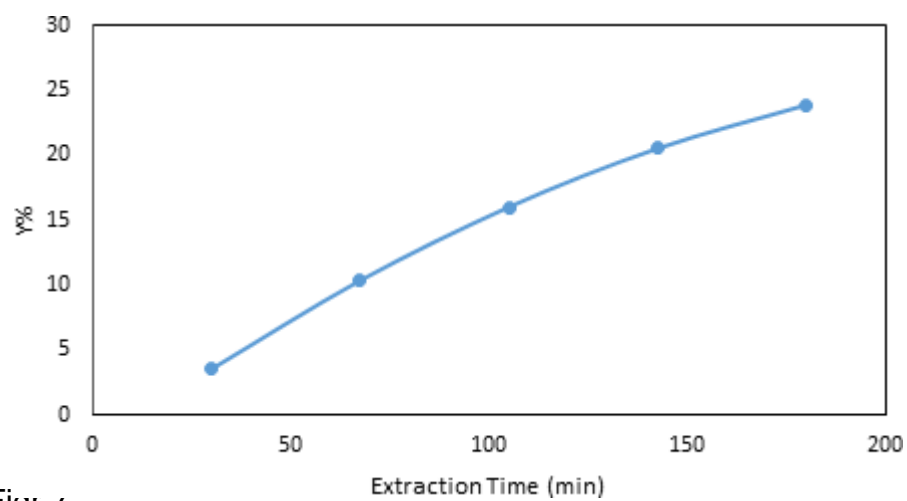


Fig-7

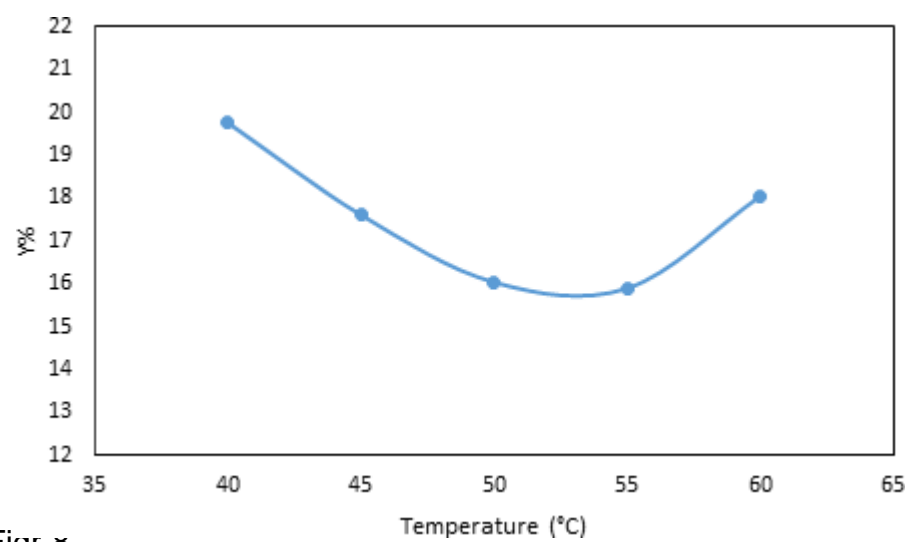
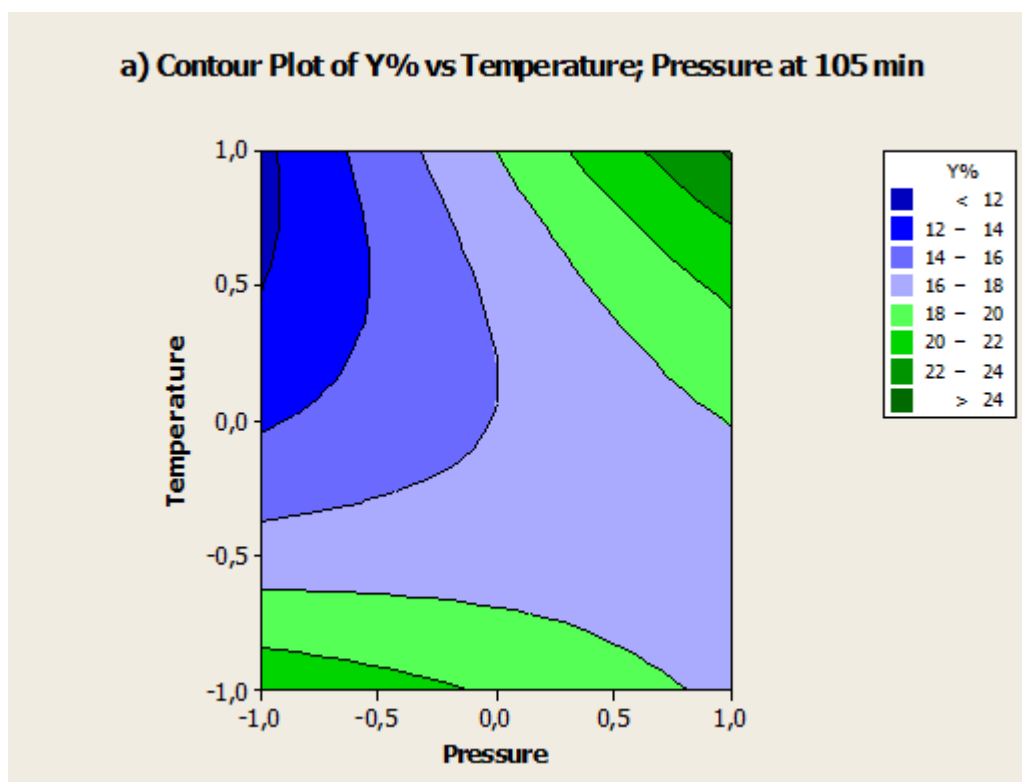
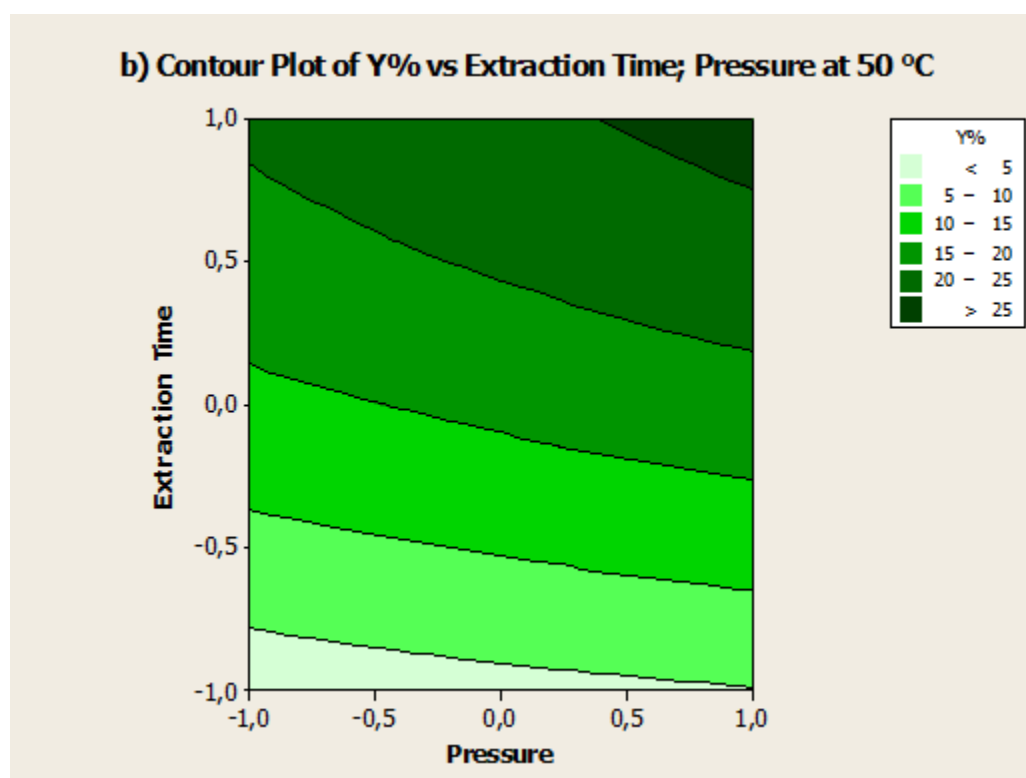


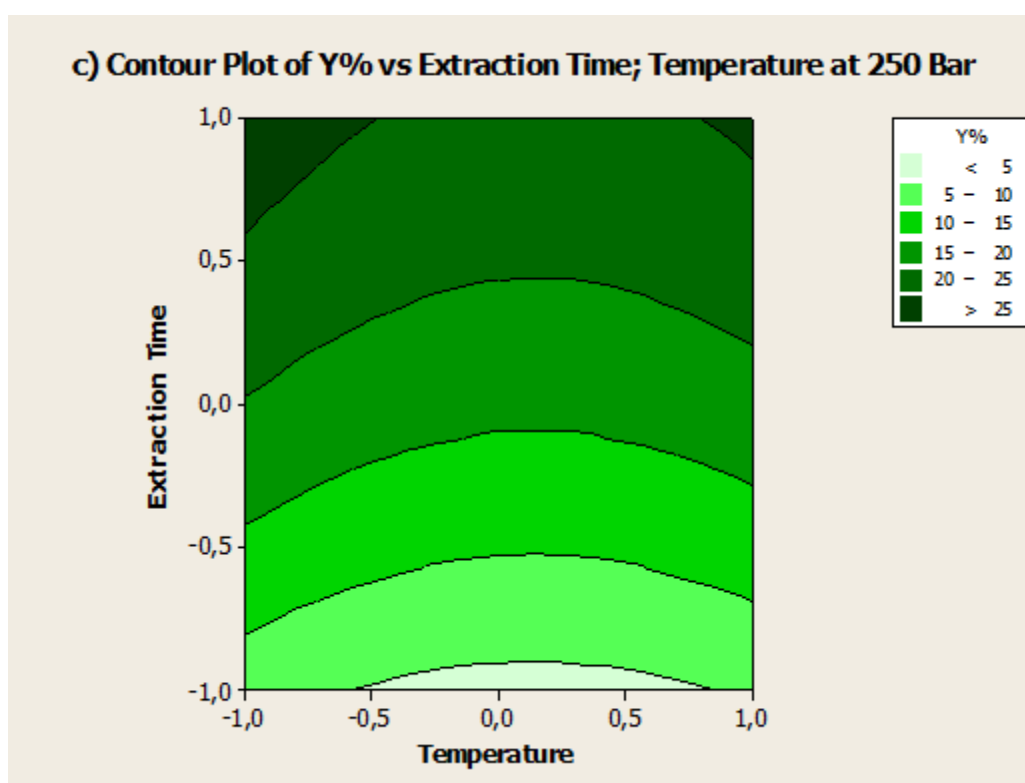
Fig-8



Figr-9



Figr-10



Figr-11

Tables

Table 1: Ranges and levels of experimental parameters.

Variables (bar)	Pressure	Temperature (°C)	Time (min)
	A	B	C
Low level (-1)	200	40	30
Mid-level (0)	250	50	105
High level (+1)	300	60	180

Table 2: Box-Behnken design Matrix in encoded units along with the measured responses

Experimental Run	Pressure (bar) X₁	Temperature (°C) X₂	Time (min) X₃	Yield (%) Y
1	200	40	105	20.14
2	300	40	105	18.82
3	200	60	105	10.31
4	300	60	105	25.77
5	200	50	30	4.63
6	300	50	30	4.63
7	200	50	180	21.04
8	300	50	180	24.12
9	250	40	30	6.195
10	250	60	30	4.375
11	250	40	180	29.01
12	250	60	180	26.87
13	250	50	105	16.03
14	250	50	105	15.80
15	250	50	105	16.30
Soxhlet Extraction*	-	80	480	33

* The oil yield reported by bengana et al 2009.

Table 3: Fatty acid compositions

Peak Name	Results (%)	Retention Time (min)
C16:0 Palmitate	12.83	5.623
C16:1n-7c Palmitoleate	0.13	5.971
C17 :1 Margaroleate	0.09	6.876
C18:0 Stearate	2.04	7.357
C18:1n-9t Elaïdate	0.35	7.734
C18:1n-9c Oleate	59.30	8.021
C18:1n-7c Vaccenate	3.02	8.087
C18:2-6c Linoleate	19.41	9.053
C18:3n-3 Linolenate	0.29	10.322
C20:1n-9c Eicosenoate	0.18	11.311

Table 4: Comparison of fatty acid compositions of olive oil extracted by Supercritical CO₂ and by cold pressing

Peak Name	Supercritical CO ₂ Extraction yield (%)	Cold pressing extraction yield (%) [6]
C16:0 Palmitate	12.83	14.15
C16:1n-7c Palmitoleate	0.13	1.88
C17:0 Margarate	-	0.06
C17 :1 Margaroleate	0.09	0.11
C18:0 Stearate	2.04	2.07
C18:1n-9t Elaïdate	0.35	-
C18:1n-9c Oleate	59.30	67.48
C18:1n-7c Vaccenate	3.02	-
C18:2-6c Linoleate	19.41	12.93
C18:3n-3 Linolenate	0.29	0.35
C20:0 Arachidate	-	0.57
C20:1n-9c Eicosenoate	0.18	0.26
C22:0 Behinate	-	0.11
C24:0 Lignocerate	-	0.03

Table 5: Analysis of variance (ANOVA) for the fit the extraction yield from Box-Behnken design.

Source of variations	Degree of freedom	Sum of squares	Adjusted mean square	F-value
Regression	9	994.12	110.457	20.72
Residuals	5	26.65	5.331	
Total	14	1020.77		

$R^2 = 97.4\%$, $\text{Adj-}R^2 = 0.927$. $F\text{-value} = 20.72 \gg F_{0.05}(9 ; 5) \text{ tabular} = 4.77$.



Nom et Prénom : Abdelber BELBAKI
Titre : Etude Expérimentale et Modélisation de l'Extraction
des Lipides des Matrices Végétales
Thèse en vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat Troisième Cycle

Résumé

Le recours à des extraits bios et libres de traces de solvants est largement connu au cours de ces dernières années. Dans ce contexte, le marché mondial à travers les industries agro-alimentaire et pharmaceutiques fait appel à des méthodes alternatives afin d'extraire des principes actifs et des substances d'intérêts. Ces dernières remplacent les procédés d'extractions par solvants toxiques qui peuvent présenter un danger sur la santé humaine ou animale. Généralement, l'industrie n'est pas intéressée par des solvants complexes mais plutôt par des solvants simples et moins toxiques tels que le dioxyde de carbone ou les hydrocarbures légers.

Ce travail de thèse a trait à l'extraction des lipides d'origine végétale à partir des fruits d'olives algériens par une technologie verte utilisant le CO₂ à son état supercritiques en adoptant la méthodologie des plans d'expériences. Différents paramètres tels que la pression, la température et le temps d'extraction sur le rendement sont examinés et optimisés.

Le rendement maximal en huile obtenu est de 29.01% dans les conditions de 250 bars, 40 °C et 180 min. Des effets significatifs du temps d'extraction et de la pression sont montrés sur le taux de matière grasse extraite, contrairement à la température. L'optimisation du processus par plan Box-Behnken a permis d'identifier le point optimal aux conditions 300 bars, 60 °C et 180 min ou le rendement maximal atteint est de 33,35%.

La composition des extraits en acides gras et de glycérides par CPG s'est avérée similaire à celle de l'huile d'olive obtenue par les méthodes classiques. La morphologie visualisée par MEB justifie l'utilisation de la technique des fluides supercritique.

Une valorisation des sous-produits est tentée en testant les effets de l'activité antibactérienne et antimicrobienne de la cire, ainsi que le pouvoir adsorbant du résidu de l'extraction des fruits d'olives de deux polluants à savoir le bleu de méthylène et la paracétamol. Les résultats des tests biologiques sont très prometteurs. Pour la capacité d'adsorption, le résidu a montré un pouvoir adsorbant très important comparativement au charbon actif, au mac du café et à la bentonite.

Les résultats de la modélisation par le modèle de Shrinking Core modifié par rapport à l'ajustement du diamètre des particules d_p en plus du coefficient de diffusion effectif D_e , sont en bon accord avec ceux obtenus expérimentalement.

A travers cette étude, nous confirmons que l'extraction par fluides supercritiques spécifiquement le CO₂ est un procédé vert vis-à-vis les différents avantages qu'il présente.

Mots clés : Lipides ; sérum ; CO₂ Supercritique ; Huile d'olive ; Les acides gras ; Rendement d'extraction ; modèle de 'Shrinking Core'.

Directeur de thèse : Wahida LOUAER – Université Constantine 3

Année Universitaire : 2020-2021

