

*République Algérienne Démocratique et Populaire*

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

**Université A. MIRA -Bejaïa**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Département de Sciences Alimentaires**

**Spécialité Sciences des corps gras**



**Réf:.....**

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Utilisation des enzymes dans l'extraction des  
huiles végétales**

Présenté par:

**Chellali Lylia**

**&**

**Chelit Samhia**

Soutenu le: **25 Septembre 2021**

Devant le jury composé de :

ISSAADI Ouarda

MCB

Présidente

BERKATI née ALOUI Salima

MAA

Encadreur

ABDELFETTAH née DEFLAOUI Leila

MCB

Examinatrice

**Année universitaire: 2020/2021**

# REMERCIEMENTS

*On remercie dieu maître des cieux et des terres, le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté et le courage d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Nos remerciements les plus sincères vont à Mme BERKATI née ALOUI Salima, notre encadreur qui nous a fait l'honneur d'avoir veillé et dirigé ce travail par son aide scientifique, ses précieux conseils, et son orientation.*

*Nous remercions vivement, Mlle ISSAADI Ouarda , d'avoir accepté de nous honorer en présidant le jury d'examination. Ainsi que Mme ABDELFETTAH née DEFLAOUI Leila, pour l'honneur qu'elle nous a fait de bien vouloir examiner notre travail.*

*Enfin, nos remerciements les plus sincères à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

*Je dédie ce travail :*

*À celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoir à la source d'amour .....ma mère.*

*À mon support dans ma vie, qui m'a appris et ma supporté.... mon père.*

*À mes chers frères et ma sœur qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études particulièrement Salim et Nassim.*

*À mon soutien moral et source de joie et de bonheur, mon fiancée " Oussama. K " pour l'encouragement à poursuivre mon master et à l'aide qu'il m'a toujours accordé.*

*A ma belle mère aicha et toutes mes belles sœurs.*

*À toutes les personnes de ma grande famille " oncle Toufik " " tante Lydia" " zian" mes petites anges Sarah et cerine, mes tantes, a la femme adorable que j'aime trop Karima bahloul.*

*Aux âmes de mon grand- père Amar et ma grand- mère Zahia et mon beau-père que dieu leurs accorde sa miséricorde.*

*À mon cher amie avant d'être ma binôme samhia chelit et a toute ça famille.  
À toutes mes chers amis : Sarah , manel, Samira , Basma ,fatima.*

*A vous cher lecteurs.*

*Chellali Lylia*

***Je Dédie ce travail à :***

***A Mes chers parents***

*Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

***A Mes frère et ma chère sœur***

*Pour leurs soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études*

***A Ma grande mère Nouara***

***A tout ma grande famille***

***mes tantes : Taadjate , Najima , Saliha .***

***mes oncles : Ahmed , Moukran , Ali ,Mostapha ,Amar , Noureddine , Mouhand , Samail.***

***mes cousins: Khallede , Sohibe , Nassim,Zaid .***

***mes cousines : Djazia , Sarah , Hadjira , Sabiha ,Hassina .***

***A Mes chers amis***

*Malika , Yamina , Sana , Basma , Samira , Kamilia, Nassima , Sandra , Samra Silya ,  
Kahina*

***A Ma chère amie et binôme***

*Lylia chellali et toute ca famille et son fiancé qui nous a aidé pour faire ce travail.*

***A tous ceux qui de prés ou loin mont soutenu.***

***Chelit Samhia***



## **Résumé**

La présente étude a pour objectif principal de présenter une revue bibliographique sur le procédé d'extraction enzymatique des huiles végétales.

Les opérations d'extraction d'huile des fruits et graines sont réalisées principalement par des méthodes mécaniques (extraction par pression), méthodes chimiques (extraction par solvants) ou la combinaison des deux méthodes. Des recherches ont été faites pour maximiser les rendements, réduire l'utilisation des solvants, faire les extractions plus sélectives et chercher des nouvelles alternatives d'extraction.

L'extraction d'huile avec l'utilisation des enzymes devient une autre alternative qui commence à prendre force. En effet, des études réalisées dans différents fruits et légumes ont démontré l'efficacité de l'extraction enzymatique en phase aqueuse pour l'obtention d'huile de bonne qualité tout en ayant un impact faible sur l'environnement.

**Mots clés** : Huiles végétales, Méthodes d'extraction, Extraction assistée par enzyme, Rendement et efficacité, Qualité

## **Abstract**

The main objective of this study is to present a literature review on the enzymatic extraction process of vegetable oils.

Oil extraction operations from fruits and seeds are carried out mainly by mechanical methods (pressure extraction), chemical methods (solvent extraction) or a combination of the two methods. Research has been done to maximize yields, reduce the use of solvents, make the extractions more selective and look for new extraction alternatives.

Oil extraction with the use of enzymes is becoming another alternative that is starting to gain strength. Indeed, studies carried out in different fruits and vegetables have demonstrated the effectiveness of the enzymatic aqueous extraction for obtaining good quality oil while having a low impact on the environment.

**Keywords**: Vegetable oils, extraction method, enzymatic extraction, yield and efficiency, Quality

**Table Des Matières**

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

**Introduction** 1***Partie I : Généralités sur les huiles et les enzymes***

<b>I.1</b>	Généralité sur les huiles végétales	2
<b>I.1.1</b>	Définitions	2
<b>I.1.2</b>	Composition des huiles végétales	3
<b>I.1.3</b>	Classification des huiles végétales	4
<b>I.1.4</b>	Principales huiles végétales consommées dans le monde	4
<b>I.1.5</b>	Méthodes d'extraction des huiles végétales	5
<b>I.1.6</b>	Autres méthodes d'extractions des huiles végétales	7
<b>I.2</b>	Généralité sur les enzymes	8
<b>I.2.1</b>	Définition	8
<b>I.2.2</b>	Nomenclature et classification des enzymes	8
<b>I.2.3</b>	Structure des enzymes	9
<b>I.2.4</b>	Spécificité de l'activité enzymatique	10
<b>I.2.5</b>	Sources et méthodes d'obtention des enzymes industrielles	10
<b>I.2.6</b>	Immobilisation des enzymes	11
<b>I.2.7</b>	Utilisation des enzymes dans les industries agro-alimentaires	12

***Partie II : Extraction enzymatique aqueuse des huiles***

<b>II.1</b>	Extraction enzymatique aqueuse	14
<b>II.2</b>	Principe et méthodologie	14

<b>II.3</b>	Enzymes et combinaisons enzymatiques utilisées dans l'extraction aqueuse assistée par enzyme	16
<b>II.4</b>	Facteurs affectant l'extraction	19
<b>II.4.1</b>	Taille des particules	19
<b>II.4.2</b>	PH	20
<b>II.4.3</b>	Température d'incubation	20
<b>II.4.4</b>	Rapport enzyme/substrat	21
<b>II.4.5</b>	Humidité	22
<b>II.4.6</b>	Agitation	22
<b>II.5</b>	Avantages de l'extraction enzymatique aqueuse	22
<b>II.6</b>	Inconvénients de l'extraction enzymatique aqueuse	23
<b>II.7</b>	Comparaison de la qualité de l'huile obtenue par extraction enzymatique aqueuse et par méthodes conventionnelles	24
	Conclusion	28
	Références Bibliographiques	



**Liste des figures**

<b>Figure 1</b>	Constituants des huiles végétales.	3
<b>Figure 2</b>	Production et consommation mondiales des huiles végétales (millions de tonnes).	5
<b>Figure 3</b>	Consommation mondiale par type d'huile végétale en 2018.	5
<b>Figure 4</b>	Opérations unitaires du procédé de trituration.	6
<b>Figure 5</b>	Structure moléculaire de la lipase B de <i>Candida antarctica</i> - En bleu sont présentées les structures secondaires de type hélice $\alpha$ et en rouge les feuillets $\beta$ . Les trois résidus aminoacides figurant sur les structures représentent la triade catalytique.	9
<b>Figure 6</b>	Différentes techniques d'immobilisation.	11
<b>Figure 7</b>	Schéma de l'extraction par voie enzymatique.	15
<b>Figure 8</b>	Production d'huile d'olive par extraction enzymatique aqueuse avec différents post-traitements.	16

**Liste des tableaux**

<b>Tableau I</b>	Classification des huiles végétales	4
<b>Tableau II</b>	Différentes classes d'enzymes	9
<b>Tableau III</b>	Effet du traitement enzymatique sur le rendement en huile	19
<b>Tableau VI</b>	Caractéristiques et des rendements en huile des extractions par solvant, aqueuses et enzymatiques	24

## Liste des abréviations

**USDA:** United States Departement of Agriculture

**EAM:** Extractions assistée par micro onde

**PEA:** Procédé d'extraction par voie aqueuse

**S:** Substrat

**E:** Enzymes

**EAE:** Extraction Aqueuse assisté par Enzymes

**EC:** Enzymes classification

**MAPAQ:** Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation

# INTRODUCTION

### Introduction

Les huiles représentent une part importante du régime alimentaire chez l'homme et contiennent de nombreux nutriments essentiels (**Fine et al., 2013**). En effet, les matières grasses sont l'une des sources énergétiques principales en alimentation humaine mais aussi vectrices de vitamines, d'acides gras essentiels et autres constituants mineurs, tous bénéfiques pour la santé (**Dekock et al., 2005**).

La demande accrue d'huiles végétales, pour des applications tant industrielles qu'alimentaires, met en lumière un besoin d'optimisation des procédés actuels de production. Comme pour tous procédés industriels ayant à faire face à cette problématique, leur amélioration est orientée vers une augmentation du rendement d'extraction, de la qualité des produits obtenus ainsi que vers la diminution des coûts de production.

Les techniques internationales d'extraction huilière telles que l'extraction mécanique et l'extraction par solvant dominant l'industrie de l'extraction huilière (**Tiwari, 2015**). Classiquement, l'extraction d'une huile de graine est réalisée dans une suite d'étapes comprenant un prétraitement thermique, un pressage et une extraction finale à l'hexane. Par ailleurs, le procédé d'extraction doit assurer une bonne purification de l'huile produite, afin de ne nécessiter ensuite qu'un raffinage doux.

Le besoin de nouvelles techniques réside dans le fait que les méthodes traditionnelles présentent différents inconvénients, comme plus d'énergie, plus de temps, un faible rendement et moins respectueux de l'environnement (**Sharma et al., 2019**).

De ce fait, le procédé d'extraction enzymatique aqueux est une méthode prometteuse pour faciliter la récupération des huiles des graines oléagineuses à l'aide d'enzymes (**Liu et al, 2016**).

Dans le système d'extraction enzymatique aqueux, l'eau est utilisée comme solvant d'extraction, ce qui présente de nombreux avantages par rapport à l'extraction conventionnelle. En tant que technologie innovante, l'extraction enzymatique aqueuse présente les avantages de ne pas utiliser de solvant organique, de faible consommation d'énergie et de protection de l'environnement (**Liu et al, 2016**).

Le présent travail a pour objectif de faire un tour d'horizon bibliographique sur l'une des étapes les plus importantes du processus d'obtention des huiles qui est l'extraction et vise particulièrement à projeter la lumière sur la technologie d'extraction assistée par les enzymes.

Le document est organisée en deux grandes parties, la première est consacrée à des généralités sur les enzymes et les huiles végétales tandis que la deuxième traite de manière approfondie la technologie de l'extraction aqueuse assistée par les enzymes.

# Partie I

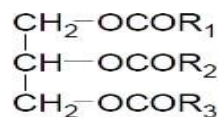
## Généralité Sur Les Huiles Végétales

## I.1 Généralité sur les huiles végétales

Les huiles végétales sont des sources privilégiées de lipides. Elles sont issues des graines et fruits oléagineux et occupent une place très importante dans divers secteurs économiques : les industries alimentaires, pharmaceutique et de la cosmétique.

### I.1.1 Définitions

En général, le mot « huile » se rapporte aux triglycérides qui se trouvent dans leur état liquide à température ambiante, On les trouve dans plusieurs plantes notamment les légumineuses (arachide, soja), les graines (de colza, de tournesol, pépins de raisin), les fruits (amande, olive, palme,), les céréales (maïs) ou encore dans le coton. Leur formule générale s'écrit :



Les huiles végétales sont des composés organiques non-volatiles, hydrophobes et parfois amphiphiles. Elles sont insolubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques non-polaires et font partie de la constitution naturelle de certaines plantes cultivées ou non.

Une huile végétale est extraite de la plante par pression à froid à partir de deux organes principaux, les graines et les fruits. Les plantes riches en huile sont appelées des oléagineux ou plante oléagineuses (**Rakotorimana , 2010**).

- **Huiles végétales comestibles** : sont des denrées alimentaires qui se composent essentiellement de glycérides et d'acides gras exclusivement d'origine végétale. Elle peuvent contenir en faible quantité d'autres lipides comme les phosphatides (**Codex Alimentarius,1993**).
- **Huiles vierges** : sont obtenues exclusivement au moyen des procédés mécaniques, n'ayant subir aucun traitements thermiques. Elles peuvent être purifiées uniquement par lavage à l'eau, décantation, filtrage et centrifugation. (**Codex Alimentarius, 1993**).
- **Huiles pressées à froid** : sont obtenues, sans modification de l'huile, exclusivement par des procédés mécaniques, sans utilisation de procédés thermiques. Elles peuvent avoir été purifiées uniquement par lavage à l'eau, décantation, filtrage et centrifugation (**Codex Alimentarius, 1993**).

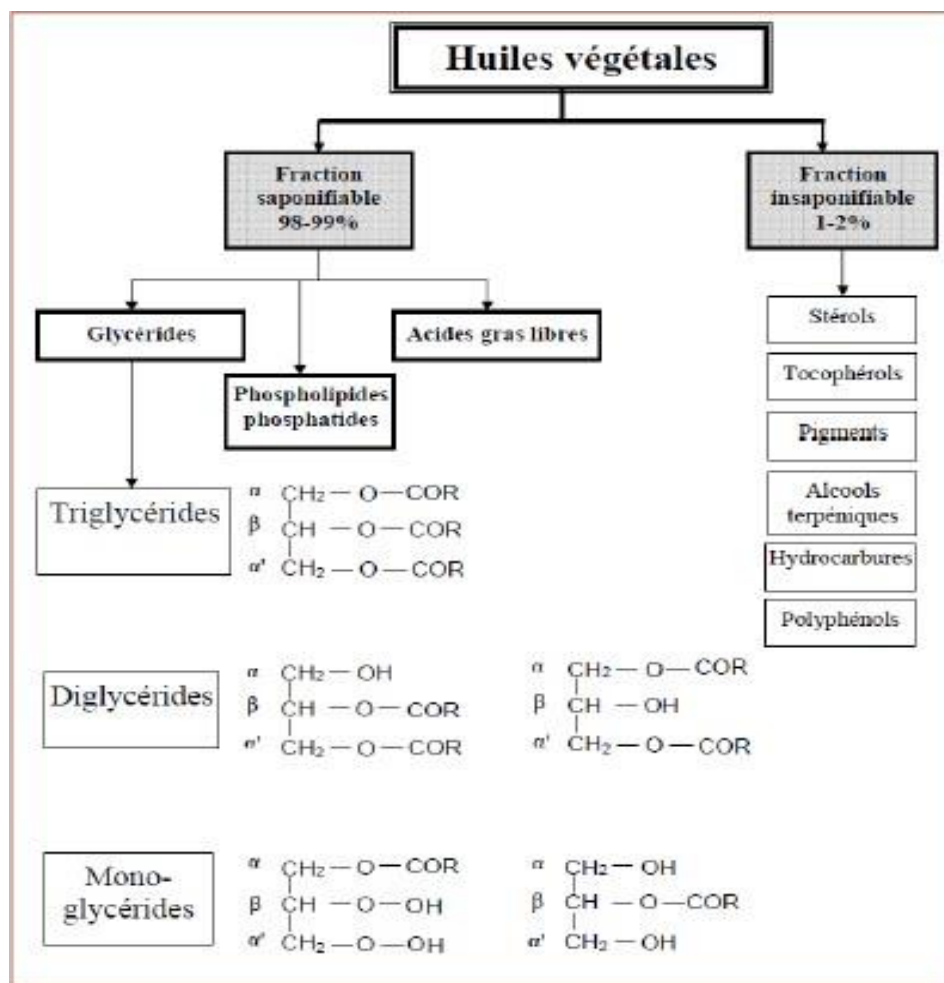
### I.1.2 Composition des huiles végétales

Les techniques d'extraction des corps gras à partir des fruits ou des graines provoquent une destruction partielle des cellules oléifères. Ainsi des constituants cellulaires liposolubles sont entraînés dans les triglycérides. Ces constituants sont dits mineurs et sont toujours présents dans les corps gras bruts et raffinés. Parmi ces constituants, on rencontre les phospholipides, les phosphatides, les stérols, les alcools gras, les pigments colorés, les cires, les hydrocarbures... (Wolf *et al.*, 1992).

On peut ainsi parler de deux fractions dans les corps gras :

- une fraction saponifiable représentant un pourcentage massique de 98 à 99% ;
- Une fraction insaponifiable représentant un pourcentage massique de 1 à 2% (Jahouachw, 2002).

La figure ci-après résume la composition des huiles végétales



**Figure 1 :** Constituants des huiles végétales (Jahouachw, 2002).



### I.1.3 Classification des huiles végétales

Selon les huiles d'origine végétale, celle-ci dispose de quantités variables des différents acides gras, répartis eux-mêmes de façon variable sur la molécule de glycérol (triglycérides) et de différents constituants mineurs. Les compositions possibles sont très variées, d'où la grande diversité de composition et de caractéristiques des huiles végétales (Alais et al., 2003).

Le tableau I représente la classification des huiles végétales :

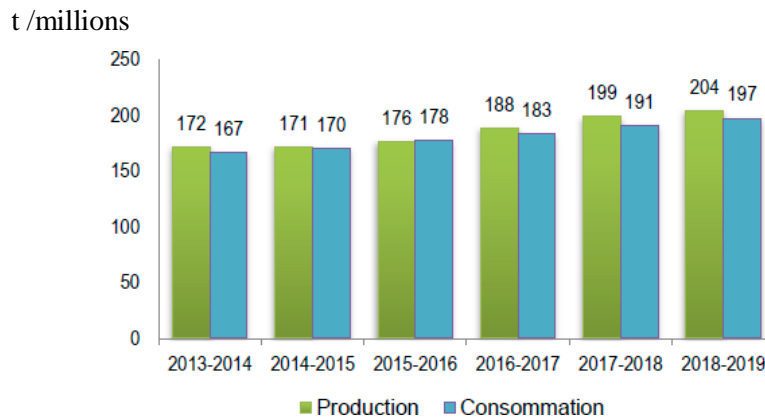
**Tableau I** : Classification des huiles végétales (Njussa, 1999).

Huiles végétales	Exemple	Pourcentage
Huiles saturées	Huile de coprah	90% d'acides gras saturés
Huiles riches en acides gras saturés et en acide oléique	Huile d'arachide Huile d'olive	19% saturés – 50% acide oléique 14% saturés – 75% acide oléique
Huiles riches en acides gras poly insaturés	Huile de carthame Huile de noix Huile de pépins de raisin Huile de tournesol Huile de soja	75% (saturés 10%) 72% (saturés 10%) 69% (saturés 13%) 66% (saturés 12%) 63% (saturés 13%)
Huiles intermédiaires	Nouvelle huile de colza	(saturés 7% acide oléique 60%, poly insaturés 29%).

### I.1.4 Principales huiles végétales consommées dans le monde

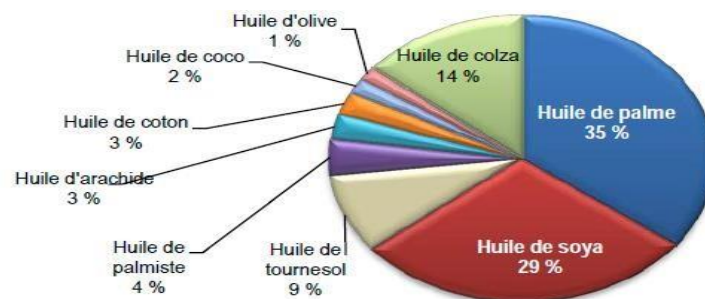
Le marché mondial des huiles végétales a enregistré une croissance notable au cours des dernières années, l'offre des huiles végétales s'est ajustée régulièrement à la demande, qui était à l'origine conditionnée par les préoccupations en matière de santé. Plus récemment, l'utilisation des huiles végétales dans la fabrication de biocarburants s'est greffée à la demande (Olatounde, 2020).

La figure 2 représente la production et la consommation mondiales des huiles végétales :



**Figure 2** : Production et consommation mondiales des huiles végétales (millions de tonnes)  
(USDA, 2018).

En 2018, les quatre huiles végétales qui ont dominé le marché mondial (tant au chapitre des quantités produites que des quantités consommées et utilisées) étaient l'huile de palme, l'huile de soya, l'huile de tournesol et l'huile de canola ou de colza. Ensemble, les huiles de palme et de soya ont formé un peu moins de 64 % de la production globale. L'huile de canola ou de colza (14 %) occupait la troisième place, suivie de l'huile de tournesol (10 %) (Figure 3)(Olatounde, 2020).



**Figure 3** : Consommation mondiale par type d'huile végétale en 2018  
(USDA, 2018).

### I.1.5 Méthodes d'extraction des huiles végétales

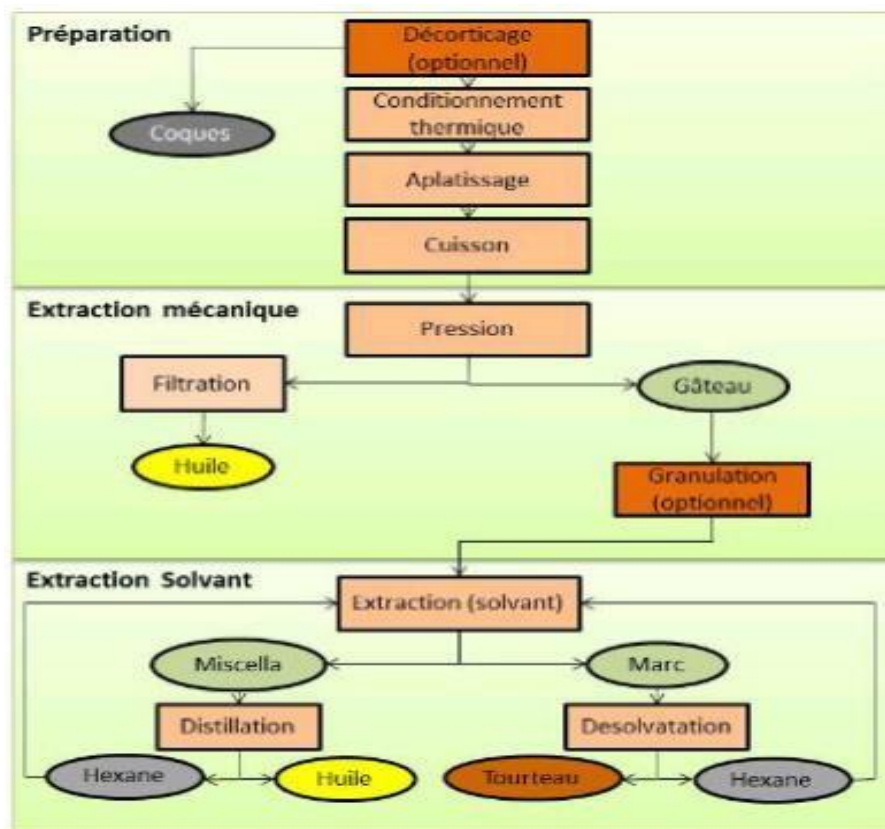
Les huiles végétales brutes sont produites au cours du procédé de trituration des graines oléagineuses. Cette opération, qui n'a que relativement peu évolué depuis 60 ans, comporte trois étapes principales (Fig. 4) (Evrard *et al.*, 2007; Bauer *et al.*, 2010; Fine *et al.*, 2013).

➤ **La préparation des graines** : Les graines oléagineuses sont tamisées à l'aide de tamis rotatifs afin de retirer les impuretés qui pourraient affecter la qualité des huiles et des tourteaux et complexifier les opérations unitaires à venir. Un chauffage à 60 °C puis un aplatissage de ces graines au travers de deux cylindres sont ensuite réalisés pour favoriser la libération de l'huile au

cours des étapes de pression et d'extraction. Cette étape d'aplatissage est cruciale puisque l'huile contenue dans une graine non ou mal aplatie ne pourra pas être extraite. Les flocons obtenus sont cuits entre 80 et 100 °C afin d'inactiver certaines enzymes, de dégrader les composés entourant les zones de stockage des lipides et améliorer ainsi l'efficacité du pressage (**Anderson, 2005**).

➤ **L'extraction mécanique** : Le passage de ces flocons cuits au travers d'une presse continue à vis permet d'extraire environ 50% de l'huile initialement contenue dans les graines. Les matières solides potentiellement contenues dans cette huile sont alors retirées par tamisage, filtration ou décantation. Le gâteau ou écailles de pression, qui contient encore entre 15 et 20 % d'huile, est ensuite granulé pour faciliter la percolation du solvant lors de l'étape d'extraction (**Johnson, 2000**).

➤ **L'extraction par solvant** L'épuisement du gâteau se déroule dans un extracteur fonctionnant en continu par immersion ou par percolation et dans lequel de l'hexane circule à contre-courant. Le solvant qui s'est continuellement enrichi en huile au cours de l'extraction, est alors distillé tandis que le marc est désolvanté par évaporation de l'hexane dans un désolvanteur. Les huiles brutes de pression et d'extraction sont ensuite mélangées puis raffinées afin de fournir aux consommateurs une huile de qualité, exempte d'impuretés et de contaminants, et qui réponde aux exigences réglementaires. (Fig. 4) (**Evrard et al., 2007; Devillers et al., 2010**).



**Figure 4** : Opérations unitaires du procédé de trituration (**Fine et al., 2013**).

### I.1.6 Autres méthodes d'extractions des huiles végétales

**Extraction par Ultrasons :** L'application des ondes ultrasonores améliore la cinétique de l'extraction par solvant de l'huile, car certains auteurs ont relevé que l'effet mécanique de ces vibrations favorise le transfert de masse et ce, pour plusieurs raisons :

- Le pouvoir des ultrasons facilite une meilleure pénétration du solvant dans les cellules.
- Ils provoquent la destruction des parois cellulaires et par conséquent la libération de l'huile

(Tritiaux *et al.*, 1997 ; Fine *et al.*, 2013).

**Extraction assistée par micro-ondes :** Les micro-ondes peuvent pénétrer les matières biologiques comme la matière grasse et les huiles végétales et agir sur les molécules polaires telles que l'eau pour leur communiquer un mouvement de fluctuation ce qui se traduit donc par une augmentation de la température de la matière en question à la profondeur de pénétration. L'extraction assistée par Micro-ondes (EAM) offre un transfert rapide d'énergie et un chauffage simultané de l'ensemble « solvant et matrice végétale solide ». En absorbant l'énergie des microondes, l'eau présente dans la matrice végétale favorise la rupture des cellules facilitant ainsi la libération des produits chimiques de la matrice et améliorant leur extraction (Kaufmann *et al.*, 2001).

**Extraction par voie biologique :** Fulbrook, (1983) a montré qu'il était possible d'accroître les rendements d'extraction d'huile par un solvant après modifications enzymatiques à l'aide d'hydrolases (issues de *Bacillus subtilis* et d'*Aspergillus niger*) et il a affirmé que l'utilisation de systèmes enzymatiques donnait d'excellents rendements d'extraction.

D'autre part, ce type d'extraction permet une réduction de la quantité de l'huile dans les

(Obergholl, 1997).



### I.1 Généralité sur les enzymes

#### I.2.1 Définition

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques majoritairement de nature protéique de haute masse moléculaire (10 à 100 Kda), présentes dans les cellules de tous les organismes vivants, ou elles jouent un rôle d'accélérer les réactions biochimiques dans des conditions de température et de milieu biologique (**Bergmeyer et al., 1979; Pelmont, 1995; Drouin, 2005**).

#### I.2.2 Nomenclature et classification des enzymes

L'ancienne nomenclature consistait en une addition du suffixe « ase » au nom du substrat de la réaction enzymatique par exemple, l'uréase catalyse l'hydrolyse de l'urée en  $\text{NH}_3$  et  $\text{CO}_2$ , la phosphatase catalyse l'hydrolyse des esters phosphoriques. Cependant cette nomenclature s'est vite trouvée dépassée par le nombre élevé d'enzymes et elle est devenue trop générale et trop imprécise. Dans d'autre cas, l'usage a consacré des appellations tout à fait imprécises telle que la trypsine, la pepsine,...etc. Pour ces raisons une nomenclature systématique a été proposée et adoptée.

En effet, les enzymes sont classées selon une nomenclature internationale (Enzyme Classification, EC), composée de quatre chiffres (EC A.B.C.D.) :

- Le premier chiffre correspond à la classe d'enzyme (par exemple, EC 3.B.C.D. = hydrolase),
- le deuxième chiffre précise le type de modification (par exemple, EC 3.4.C.D = hydrolyse d'une liaison peptidique),
- le troisième chiffre précise la catégorie précédente (par exemple, EC 3.4.22.D est une cystéine endopeptidase),
- le dernier chiffre donne un numéro dans la catégorie( **Weil, 2001 ; Spinnler, 2013**).

Les six classes d'enzymes sont représentées sur le tableau II

Tableau II : Différentes classes d'enzymes (Weil, 2001).

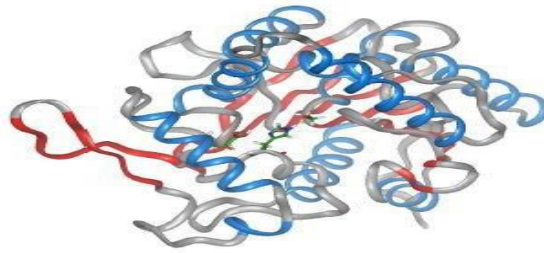
Classes	Réactions catalytiques
<b>Oxydoréductases</b> (EC 1.x.x.x)	Réactions de transfert d'électrons (ou d'atome d'hydrogène)
<b>Transférases</b> (EC 2.x.x.x)	Transfert de radicaux (Groupements phosphates, amines, méthyle, etc.)
<b>Hydrolases</b> (EC 3.x.x.x)	Réactions d'hydrolyse (bris d'un lien chimique par addition d'une molécule d'eau)
<b>Lyases</b> (EC 4.x.x.x)	Addition de doubles liaisons à une molécule et enlèvement de groupements chimiques sans hydrolyse
<b>Isomérases</b> (EC 5.x.x.x)	Réactions d'isomérisation (réaction où un composé est transformé en un de ses isomères)
<b>Ligases</b> (EC 6.x.x.x)	Formation de liens chimiques couplés avec la rupture d'ATP)

### I.2.3 Structure des enzymes

Les enzymes sont des protéines de très hauts poids moléculaires (10 000 à 1 000 000 Daltons) et sont constituées de longues chaînes d'acides aminés retenues ensemble par des liens peptidiques **pelczar et Chan,(1981)**. Ce sont toutes des macromolécules qui appartiennent à la classe des protéines globulaires. Certaines sont des holoprotéines constituées uniquement d'un enchaînement d'acides aminés; d'autres sont des hétéroprotéines possédant une partie non protéique, le cofacteur, nécessaire à l'activité catalytique et lié plus ou moins fortement à la protéine (**Arnaud et al., 1993**)

#### ❖ Exemple : Structure des lipases

Toutes les lipases connues à ce jour présentent une structure commune composée d'un feuillet  $\beta$  central formé de brins principalement parallèles reliés entre eux par des hélices  $\alpha$ . Ces enzymes ont été qualifiées d'hydrolases de type  $\alpha/\beta$ . Les acides aminés du site actif impliqués dans la réaction catalytique sont au nombre de trois. La triade catalytique est formée par la sérine, l'histidine et la glutamine ou l'asparagine selon les espèces (**Uppenberget al.,1994 ; Kim et al., 2003**).



**Figure 5 :** Structure moléculaire de la lipase B de *Candida antarctica*- En bleu sont présentées les structures secondaires de type hélice  $\alpha$  et en rouge les feuilletts  $\beta$ . Les trois résidus aminoacides figurant sur les structures représentent la triade catalytique (Uppenberg *et al.*, 1994).

#### I.2.4 Spécificité de l'activité enzymatique

Les enzymes agissent comme des catalyseurs de réactions chimiques. Leur plus grande particularité est leur très grande sélectivité à catalyser ces réactions chimiques car Contrairement aux catalyseurs inorganiques comme les acides, les bases, les métaux et les Oxydes métalliques, les enzymes sont très spécifiques. Ainsi, chaque enzyme peut briser ou synthétiser un composé particulier. Dans certains cas, elles limitent leur action à des liens spécifiques avec les composés envers lesquels elles interagissent. Par exemple, la plupart des protéases peuvent briser plusieurs types de protéines, mais dans chacune des molécules de ces protéines seuls certains liens seront modifiés selon l'enzyme utilisée (Arnaud *et al.*, 1993).

Cette spécificité présente un double aspect, soit une spécificité réactionnelle où l'enzyme ne peut catalyser qu'un type de réaction donné, comme l'hydrolyse de liaisons glucosidiques ou l'hydrolyse de liaisons esters, soit une spécificité quant au substrat puisque l'enzyme se fixe sur le substrat en des points bien précis de la protéine enzymatique. Cette fixation se fait par établissement de liaisons de type hydrogène, hydrophobes ou de Van der Waals (Arnaud *et al.*, 1993 ; Bouchagra *et al.*, 2006).

#### I.2.5 Sources et méthodes d'obtention des enzymes industrielles

Les enzymes industrielles peuvent avoir plusieurs origines dont les plantes les animaux et les microorganismes (Aviron-Violet *et al.*, 1982; Arnaud *et al.*, 1993).

La synthèse d'enzymes à partir des plantes et des animaux est cependant limitée par de nombreux paramètres difficiles à contrôler. Dès lors, la production d'enzymes à partir de la flore microbienne est l'avenue privilégiée par les producteurs puisqu'elle est plus facile à gérer avec des résultats plus constants. En fait, les principaux avantages des enzymes de production par rapport aux enzymes d'extraction sont une production indépendante des contraintes saisonnières et



géographiques, une possibilité d'utilisation de matières premières bon marché, des rendements de production pouvant être augmentés de façon importante par l'amélioration des souches microbiennes et l'optimisation des conditions de production (Arnaud *et al.*, 1993).

Parmi l'ensemble des enzymes utilisées, la moitié proviennent de champignons ou de levures, environ 30% des bactéries et ce qui reste se divise entre les sources animales (8%) et les sources végétales (4%). Il paraît important de préciser que selon le type de source, l'extraction et le traitement des enzymes seront différents (Chaplin et Bucke 1990, Combes et Monsan 2009).

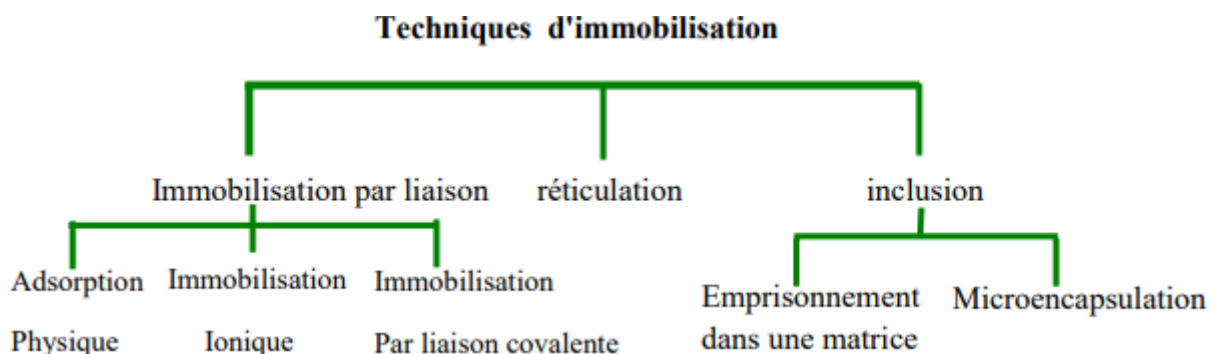
Après l'extraction et l'élimination des débris cellulaires aboutissant à l'obtention de l'extrait brut, le schéma générale d'obtention des enzymes industrielles consiste en une série d'étape de purification et une concentration, une mise à la concentration standard et au conditionnement où le produit (enzymes purifiés) est alors mis dans des flacons, containers, tonneaux de tailles différents, ou bien stocké en vrac dans des cuves (Gérard, 1991).

### I.2.6 Immobilisation des enzymes

Les enzymes présentent un fort intérêt dans le domaine de la biocatalyse et l'utilisation industrielle, mais leur coût et leur stabilité limitée dans le temps sont des inconvénients et des facteurs limitant leur utilisation industrielle.

La rétention d'enzyme dans une phase insoluble, est plus couramment dénommée immobilisation des enzymes (Durand *et al.*, 1982). Donc on peut dire qu'une enzyme est immobilisée lorsque ces molécules sont macroscopiquement confinées pendant un processus catalytique. Une nette stabilisation de l'activité catalytique est constatée après l'immobilisation des enzymes par voie chimique ou physique (suivant que l'enzyme est liée au support de manière covalente ou non) et sur différents supports insolubles (résine échangeuse d'ions, polymères synthétiques, charbon actif, verre microporeux, matériaux inorganiques) (Milovanovic *et al.*, 2007).

Les différentes techniques d'immobilisation découlant des trois principales méthodes d'immobilisation sont résumées par le schéma ci-dessous :



**Figure 6 :** Différentes techniques d'immobilisation (Ozturk, 2001).

### I.2.7 Utilisation des enzymes dans les industries agro-alimentaires

Les connaissances acquises sur le rôle des diverses enzymes ont permis le développement de nombreuses applications industrielles pour ces dernières:

#### ✚ Usages dans la fabrication de produits céréaliers: panification, viennoiseries et biscuiterie :

Le gluten provient de l'association des protéines du blé, la formation de ce dernier est un élément essentiel de la qualité du pain. Plusieurs enzymes déjà utilisés pour la fabrication du pain ou ayant les potentialités pour améliorer la qualité du pain, vont provoquer directement et indirectement l'établissement d'un réseau de liaisons covalentes entre les différentes protéines. (Joye *et al.*, 2009)

- La lipoxigénase( EC 1.13.11.X) : l'effet de cette enzyme est d'accélérer la formation de réseau de gluten , ce qui donne un effet positif sur la structure du pain .
- La glutathion déshydrogénase ( EC 1.8.5.1): l'activité de cette enzyme aboutit à un raffermissement de la pâte.
- ✓ Alpha et bêta amylase et le pullulanase (EC 3.2.1.41) sont des enzymes qui ont principalement deux actions, produire des sucres réducteurs. et limiter les possibilités de rétrogradation de l'amidon et donc de rassissement (Postus *et al.*, 1997).

#### ✚ Usage dans les préparations des fruits et légumes

Les opérations de macération, d'extraction et de filtration dans la préparation de jus et de nectars de fruits sont des opérations qui mettent en œuvre systématiquement non seulement les enzymes du tissu de la plante mais aussi des enzymes exogènes et principalement des pectinases, des hémicellulases et des cellulases. Elles permettent d'améliorer le rendement d'extraction du jus (pressage, liquéfaction), de séparer les cellules lors de la préparation de nectar (macération) et enfin d'obtenir des jus limpides (clarification) (Ribiro *et al.*, 1910).

#### ✚ Usages dans l'extraction, la purification et la transformation des matières grasses

La mise en œuvre d'enzymes est encore peu courante dans l'extraction des matières grasses. Néanmoins l'usage de cellulases, d'hémicelluloses et de protéases peut faciliter la dislocation des cellules oléifères et une extraction à des températures plus basse. Cela permet de garder une qualité aromatique caractéristique de la plante d'origine (huile de palme rouge, huile de coco, de colza, d'olive, d'avocat...). En outre, cela permet de réduire les traitements thermiques et l'usage des solvants et ainsi diminuer les coûts de production et de l'impact environnemental des huileries (Puriet *et al.*, 2012). Le raffinage peut aussi être simplifié par l'usage d'enzymes. C'est le cas de la démucilagination, première étape du raffinage des huiles, opération qui peut être simplifiée par

l'usage de phospholipases (**DeMarir et al ., 2007**). Enfin, par action de la chlorophyllase (EC 3.1.1.14), il est possible de décolorer certaines huiles par la chlorophylle.

Cependant, c'est dans la transformation des huiles que les enzymes ont le plus d'applications. En particulier les lipases permettent d'échanger, de façon régiosélective, les acides gras en position 1 ou 3 des triglycérides, permettant ainsi de conserver les acides gras insaturés en position 2 du triglycéride. Cela peut permettre de produire des substituts de beurre de cacao à partir d'huile de palme et de créer des huiles aux propriétés fonctionnelles (rhéologie, caractère émulsifiants...) et nutritionnelles (**Graille, 1997**).

### **Usages dans les produits laitiers**

La mise en œuvre d'enzymes est largement utilisée dans les produits laitiers surtout pour les fromages :

- Présure et chymosine : Les présures sont des extraits enzymatiques de la caillette des jeunes ruminants. Cette préparation est constituée principalement de protéasechymosine ( EC 3.4.23.4) et de pepsine ( EC3.4.23.1); elles sont utilisées pour la coagulation du lait.
- Plasmine du lait (EC 3.4.21.7), accélération d'affinage des fromages.
  - Lactase, elle a pour rôle d'augmenter le pouvoir sucrant, elle est utilisée pour transformer le lactosérum concentré en sirop, dans la fabrication de glaces, la lactase permet d'éviter les cristallisations de lactose tout en augmentant le pouvoir sucrant. Le lactosérum dont le lactose a été hydrolysé peut aussi avoir des applications en chocolaterie, en biscuiterie et en confiserie (**Troelsen et al., 1997**).

### **✚ Usages dans les produits carnés**

La conversion du muscle en viande s'opère grâce à une succession de processus enzymatiques, appelé communément " rassisement de la viande", qui conduisent à un changement de texture de la viande et permettent son attendrissement.

L'usage d'enzymes exogènes a un intérêt pour les maturations les plus lentes. Pour le porc, l'agneau et la volaille, l'usage d'enzymes permet d'uniformiser la tendreté des muscles d'animaux différents et la conversion de morceaux à bouillir vers des morceaux à rôtir plus faciles à valoriser. La papaïne (EC 3.4.22.2), la ficine( EC 3.4.22.3), la bromélaïne de l'ananas ( EC 3.4.22.32) et des collagénases ( EC 3.4.24.3) bactériennes ou fongique sont les plus efficaces (**Ouali et al ., 1997**).

## Partie II

# Extraction enzymatique aqueuse des huiles

## II.1 Extraction enzymatique aqueuse

Une des voies explorée pour limiter l'usage de l'hexane est le procédé d'extraction par voie aqueuse (PEA). Contrairement aux méthodes utilisant des solvants organiques, il joue non pas sur la dissolution de l'huile, mais sur l'immiscibilité huile – eau (**Rosenthal, 1996**).

Les graines broyées sont donc portées à ébullition dans l'eau, ce qui permet théoriquement la libération de l'huile à la surface de la phase aqueuse. Toutefois, la production d'une émulsion stable huile dans l'eau, liée notamment à la présence d'agents tensioactifs tels que les phospholipides, les glycolipides ou les protéines, rend cette opération moins simple qu'il n'y paraît. De plus, la structure complexe de la graine est une barrière à la pénétration de l'eau. Et enfin, la composition physico-chimique de la graine implique qu'un grand nombre de paramètres vont influencer sur les rendements d'une telle extraction directe qui s'avèrent globalement assez faible (**Rosenthal et al., 1996**).

En dépit de leurs avantages sur le plan environnemental et sanitaire, il est souvent reproché aux procédés d'extraction aqueux des huiles végétales un manque d'efficacité en termes de rendement en huile. Ces performances insuffisantes seraient liées à la présence de structures cellulaires persistantes qui emprisonneraient de l'huile résiduelle dans la matrice protéagineuse, que seul un puissant solvant apolaire permet d'extraire quantitativement. En réponse à ce problème, des méthodes faisant intervenir des enzymes ont été développées. Ces enzymes sont d'activité et de nature diverses (protéases ou polysaccharides hydrolases) et deviennent alors des auxiliaires de déstructuration des parois cellulaires des tissus oléagineux, en association avec le traitement physique de broyage. Le procédé étant quasiment identique à celui de l'extraction aqueuse (outre une phase d'hydrolyse enzymatique), il pose les mêmes exigences que les procédés d'extraction aqueux. (**Hanmoungjai et al., 2001 ; Abdulkarim et al., 2005**).

## II.2 Principe et méthodologie

Le principe de l'extraction aqueuse assistée par enzyme est de détruire la structure cellulaire des graines et fruits oléagineux par rupture mécanique ; puis, des complexes macromoléculaires internes (lipoprotéine, lipopolysaccharide et polysaccharides de la paroi cellulaire) sont hydrolysés par des enzymes pour faciliter la libération d'huile (**Yusoff et al., 2014 ; Chen et al., 2015**).

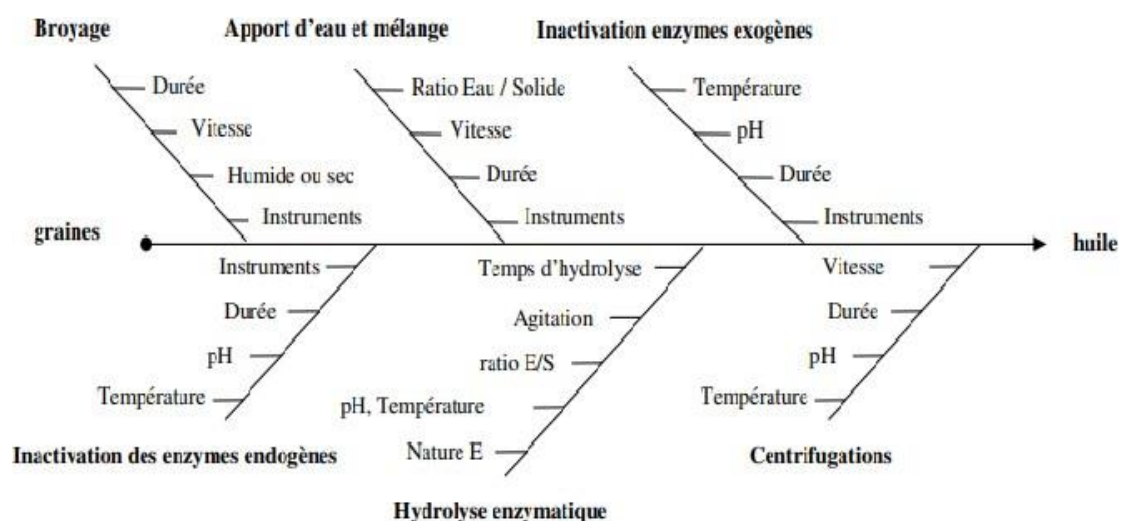
Le mécanisme d'action des enzymes est le point le plus important du procédé d'extraction du fait de la spécificité des enzymes. Principalement, ceci est relié à la capacité de l'enzyme à hydrolyser la paroi cellulaire du produit traité et ainsi d'hydrolyser la structure complexe formant la paroi cellulaire. Cette déstructuration entraîne ensuite la libération des composés d'intérêt dans le milieu (**Hanefeld et al., 2009**).

L'hydrolyse nécessite des conditions physico-chimiques avec des températures de l'ordre de 25 à 60°C et des pH proches de la neutralité (4,5 à 9) (Hardouin *et al.*, 2014).

La méthode d'extraction enzymatique d'huile en milieu aqueux comprend les étapes suivantes (Guillemin, 2006) :

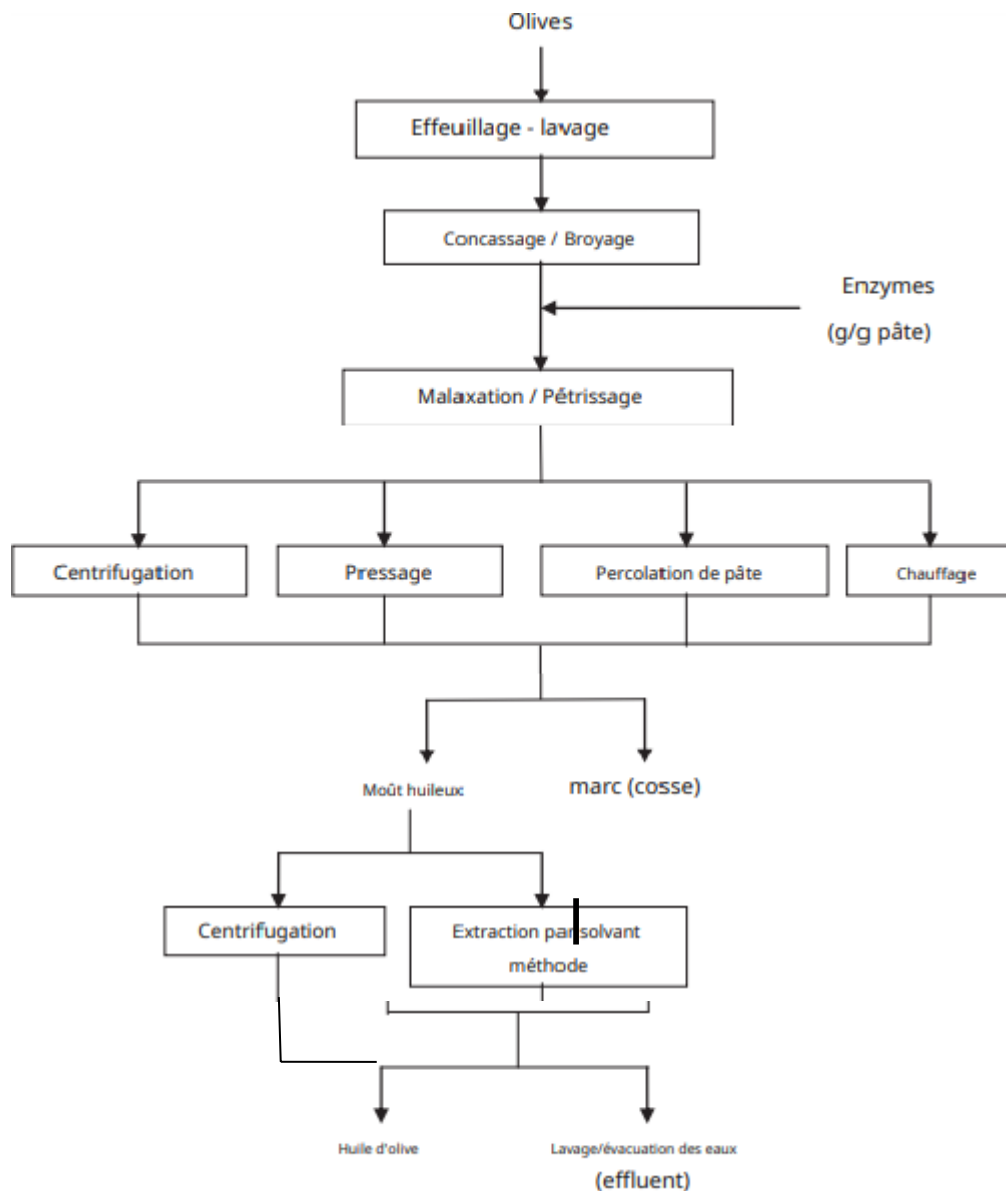
- a) Addition d'eau à la matière végétale présentant une taille de particule appropriée.
- b) Addition d'un mélange enzymatique contenant au moins une cellulase, une hémicellulose et une pectinase.
- c) Incubation sous agitation de la matière végétale et du mélange enzymatique pour libérer dans le milieu réactionnel des huiles, des protéines et des sucres fermentescibles, pendant une durée dépendant des rendements recherchés.
- d) Séparation du milieu réactionnel pour obtenir de l'huile libre, une phase aqueuse contenant des protéines et des sucres fermentescibles, et une phase solide.
- e) Eventuellement séparation d'une émulsion de l'huile libre ou de la phase aqueuse, et recyclage de l'émulsion dans le milieu réactionnel.
- f) Séparation des protéines et des sucres fermentescibles de la phase aqueuse.

Les figures 7 et 8 ci-après représentent un schéma de procédé d'extraction d'huile par voie enzymatique et un exemple d'extraction d'huile d'olive.



**Figure 7 :** Schéma de l'extraction par voie enzymatique : paramètres à ajuster. (Guillemin, 2006)

*E : enzyme S : substrat*



**Figure 8 :** Production d'huile d'olive par extraction enzymatique aqueuse avec différents post-traitements (Adapté par : *Ranalli et al., 1999*; *Garcia et al., 2001* ; *Ranalli et al., 2001* ; *Ranalli et al., 2003* ; *De Faveri et al., 2008*)

### II.3 Enzymes et combinaisons enzymatiques utilisées dans l'extraction aqueuse assistée par enzyme

L'EAE a un intérêt particulier par la diversité des enzymes pouvant être appliquées. Actuellement, les enzymes spécifiques sont très coûteuses, de ce fait l'industrie s'oriente vers l'utilisation de cocktails enzymatiques.

Pour extraire les réserves lipidiques stockées dans les cellules, il faut pouvoir franchir plusieurs barrières : d'abord les parois extracellulaires (ou parois cellulaires secondaires), puis la

paroi cellulaire, et enfin les oléosomes. Chaque paroi cellulaire possède ses propres constituants, parfois organisés en une structure complexe, et synthétisés et dégradés de manière naturelle par des enzymes spécifiques. Par exemple, les parois cellulaires secondaires du colza sont constituées de 39% de pectines, 29% d'hémicelluloses, 22% de cellulose, 8% d'arabinogalactanes et constituent 20 à 28 % de la graine totale. La paroi cellulaire primaire contient 10 % de glycoprotéines très riches en hydroxyproline, d'abord appelées extensines mais appelées aujourd'hui HRGP (HydroxyProline Rich Glycoprotein). (**Dominguez et al., 1994**).

La dégradation complète de la cellulose nécessite trois types d'enzymes : deux cellulases (EC 3.2.1.4 et EC 3.2.1.91) et une  $\beta$ -glucosidase (EC 3.2.1.21). La première cellulase, appelée 1,4- $\beta$ -cellobiosidase, est capable d'hydrolyser les liaisons intermoléculaires  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glucosidiques. La seconde cellulase peut hydrolyser la cellulose des extrémités des chaînes glucosidiques ; ils forment par conséquent soit du glucose, soit du cellobiose. Enfin, les  $\beta$ -glucosidases peuvent hydrolyser les molécules de cellobiose, formant du glucose (**Ricochon et al., 2010**).

Les hémicelluloses nécessitent, comme pour la dégradation de la cellulose, un ensemble d'enzymes capables de travailler ensemble. Les oligosaccharides formant les hémicelluloses sont divers et, par conséquent, nombreuses sont les liaisons possibles. Parce que les enzymes sont pour la plupart spécifiques d'un type unique de liaison, l'utilisation d'un mélange d'enzymes avec différentes activités est nécessaire pour la dégradation complète des hémicelluloses par exemple:

- Les xylanases (EC 3.2.1.8) hydrolysent les chaînes de xyloses produisant de petits xylo-oligomères (**Shallom et al., 2003**).
- Les mannanases (EC 3.2.1.78) hydrolysent les hémicelluloses composées de mannoses et libèrent des  $\beta$ -1,4-manno-oligomères, qui peuvent ensuite être hydrolysés en mannose par lamannosidase (EC 3.2.1.25) (**Ricochon et al., 2010**).
- Les -L-arabinofuranosidases (EC 3.2.1.55) et -L-arabinanases (EC 3.2.1.99) hydrolysent l'hémicellulose constituée d'arabinose (**Ricochon et al., 2010**).
- Les  $\beta$ -xylosidases (EC 3.2.1.37) sont des exo-glycosidases qui hydrolysent de courts oligomères en unités simples de xyloses ( **Ricochon et al., 2010**).
- Les ester hydrolases de pectine sont également connus sous le nom de pectine méthyl estérases. Ces enzymes catalysent la déstérification des groupes méthoxy formant des acides pectiques. Ces enzymes agissent de manière préférentielle sur les esters méthyliques d'unités galacturonate proches des mêmes unités non estérifiées. Ces actions sur les chaînes de pectine préparent le substrat aux enzymes supplémentaires (**Ricochon et al., 2010**).



En théorie, l'utilisation de protéases pourrait être intéressante pour l'extraction d'huile. Il permettrait aux protéines des structures de la paroi cellulaire de se briser, ainsi qu'aux oléosines, qui stabilisent les oléosomes (**Ricochon et al., 2010**).

Bon nombre d'études menées sur des substrats divers tels que le soja (**Adler-Nissen, 1986 ; Olsen, 1988 ; Yoon et al., 1991**), le maïs (**Bocevaska et al., 1993**), l'olive (**Fantozzi et al., 1977 ; Ranalli et Martenilli, 1994**), la noix de coco (**Mac Glone et al., 1986 ; Christensen, 1989 ; Barrios et al., 1990**), l'avocat (**Buenrostro et Lopez-Mungia, 1986 ; Freitas et al., 1993**), le tournesol (**Lanzani et al., 1975 ; Domínguez et al., 1995**), ou le palmier (**Cheah et al., 1990**) traitent l'extraction aqueuse assistée par enzymes et parviennent à des rendements plus que satisfaisants.

L'ensemble de ces travaux montre clairement qu'il n'existe pas de règle en ce qui concerne la ou les activités enzymatiques et les conditions opératoires à employer. Cette hétérogénéité est à relier aux propriétés structurales et physicochimiques du substrat utilisé ainsi qu'à la nature des enzymes employées. Malgré tout, une tendance semble se dégager : l'emploi de complexes multi-enzymatiques, qui donne en général de meilleurs résultats qu'une enzyme individuelle (**Lanzani et al., 1975 ; Olsen, 1988 ; Barrios et al., 1990 ; Yoon et al., 1991**). De plus, des études portant sur le colza (**Lanzani et al., 1975 ; Olsen, 1988 ; Olsen, 1994**) ou d'autres substrats semblent très prometteuses et affichent un rendement en huile pouvant aller jusqu'à 90 %.

Selon **Rosenthal et al. (2001)**, l'utilisation d'Alcalase 2,4 L (protéase) a augmenté le rendement en huile du soja par rapport à la cellulase, l'hémicellulase et la pectinase. De même, **Santos et Ferrari ,(2005)** ont rapporté que l'Alcalase et le Celluclast (cellulase) ont pu augmenter le rendement en huile du soja, l'Alcalase donnant des rendements plus élevés. Un rendement plus élevé dans le cas de la protéase (96,0 %) par rapport à la phospholipase (73,4 %) a également été signalée par **Jung et al .(2009)** dans le cas de flocons de soja extrudés.

De plus, **Lamsal et al . (2006)** a signalé que l'utilisation de la cellulase individuelle et un mélange de cellulase et de protéase n'a pas significativement augmenter le rendement en huile de soja (68%); pourtant, le rendement a augmenté lorsque la protéase individuelle a été ajouté (88%). Ces résultats illustrent la spécificité des enzymes et des mélanges enzymatiques pour le substrat. En effet, la présence de protéines en tant que composant majeur de la paroi cellulaire des graines de soja suggère que l'huile est libérée plus facilement de la matrice cellulaire en dégradant les protéines, qui est obtenu par l'action de la protéase.

Dans le cas du colza, la pectine serait le composant principal de sa paroi cellulaire, d'où les rendements en huile les plus élevés, jusqu'à 85,9 %, qui ont été rapportés lorsque la pectinase est utilisée, ce qui est significativement supérieure aux valeurs obtenues avec d'autres carbohydrases (Zhang *et al.*, 2007). ont également employé une combinaison de pectinase avec de la cellulase et de la  $\beta$ -glucanase dans un rapport de 4:1:1 qui a donné le rendement le plus élevé (91,6 % d'huile).

Le tableau VI présente l'effet du traitement enzymatique sur le rendement en huile de quelques oléagineux

**Tableau VI : Effet du traitement enzymatique sur le rendement en huile.(Kalia *et al.*, 2001)**

Oléagineux, fruits	Enzyme	Rendement en huile, pour cent avec enzyme	Sans enzyme
Soja	Protéolytique	86,0	62,0
Palm	Pectinases	97,7	91,1
Noix de coco	Polyglacto-uraonase	80-90	*
Avocat	$\alpha$ -Amylase	75,0	65,0

## II.4 Facteurs affectant l'extraction

Plusieurs facteurs sont essentiels pour un rendement d'huile optimal Afin de concevoir un processus, les facteurs critiques affectant le rendement doivent être explorés et optimisés (Mwaurah *et al.*, 2019).

### II.4.1 Taille des particules

Afin de faciliter la libération d'huile des alvéoles du matériau oléagineux, il est impératif d'augmenter la surface de contact du matériau avec le solvant. Ceci, à son tour, permet une infiltration plus rapide et plus facile du support de transfert. La réduction de la taille provoque une perturbation plus importante de la paroi cellulaire et réduit la longueur du chemin de diffusion à travers lequel les enzymes et les composants cellulaires doivent diffuser (Passos *et al.*, 2009). La réduction de la taille est obtenue par broyage ou fraisage et les constituants structurels et chimiques ainsi que la teneur en humidité des graines oléagineuses déterminent si un broyage à sec ou humide doit être effectué (Kumar *et al.*, 2019)

Les matières oléagineuses à haute teneur en humidité telles que la noix de coco sont broyées par voie humide, tandis que celles à faible teneur en humidité, par exemple, le soja et le colza sont mieux moulues par voie sèche (Rovaris *et al.*, 2012). D'un point de vue général, les particules de petite taille favorisent l'extraction d'huile à partir de matières Oléagineuses ; cependant, la

composante squelettique et maigre des graines oléagineuses doit être évitée car elles abaissent la microporosité et réduisent ainsi l'efficacité de l'extraction. (Nyam *et al.*, 2009).

Dans certains cas, si les graines oléagineuses contiennent une teneur élevée en huile, les particules de petite taille ont tendance à adhérer ensemble et cela affecte l'efficacité de l'extraction de l'huile (Nyam *et al.*, 2009).

Wu , ( 2009) ont mené un test sur des graines de lin et ont obtenu une augmentation de 31 % du rendement en réduisant la taille des particules de 400 à 100 µm.

#### II.4.2 pH

Une plus grande efficacité d'extraction d'huile n'est obtenue qu'à un pH optimal et chaque enzyme à sa valeur optimale spécifique. Si l'extraction de l'huile végétale est effectuée au point isoélectrique des protéines, le processus pourrait être entravé car les protéines ont tendance à être insolubles à ce stade (Tabtabaei *et al.*, 2013).

L'effet se produit parce que, dans la plupart des graines oléagineuses, les molécules de lipides sont intégrées aux molécules de protéines. Les tentatives pour contrer les variations du pH des enzymes tout en maintenant le point isoélectrique des protéines dans la plage optimale sont la principale raison d'utiliser un mélange d'enzymes (Yusoff *et al.*, 2015).

Dans l'une de ces études, le rendement en huile des graines de lin était le plus élevé (73,9%) lorsqu'elles étaient traitées avec une concoction d'enzymes : cellulase, hémicellulase et pectinase dans un rapport de 1:1:1 et à un pH compris entre 4,5 et 5 que lorsqu'il est soumis à l'une ou l'autre des enzymes individuelles (Long *et al.*, 2011). Le Soja traité avec un mélange d'Alcalase 2,4 L et Cellulase 1,5 L entraîné 26,82 % d'huile à un pH de 4,5 et 20,63 % d'huile à pH non contrôlé. De même, lorsqu'il est traité avec Alcalase 2,4 L et Viscozyme L, le rendement en huile était de 29,48 % et 20,23 % pour un pH de 4,5 et un pH non contrôlé respectivement (Rovaris *et al.*, 2012).

#### II.4.3 Température d'incubation

La température est l'un des facteurs critiques pour toute technique d'extraction huilière. Outre le pH, les enzymes sont également sensibles à la température et sont actives dans une plage de températures étroite (Rui *et al.*, 2009). En règle générale, l'extraction enzymatique aqueuse est plus efficace à ou en dessous de 45 °C en fonction des acides gras présents et du type d'oléagineux. Les températures supérieures à 45 °C dénaturent les protéines et abaissent l'hydrolyse enzymatique, entravant le processus d'extraction d'huile (Kumar *et al.*, 2017).

Des études montrent que la température optimale pour l'extraction enzymatique est de 30°C pour l'olive, 34 °C pour les graines de lin, et 40°C pour l'arachide (**Aliakbarian et al., 2008; De Faveri et al., 2008**). Ces études suggèrent qu'il faut déterminer la température optimale pour une graine donnée pour un rendement maximum.

#### II.4.4 Rapport enzyme/substrat

Le rendement en huile est directement proportionnel à la concentration des enzymes dans les milieux d'extraction. Plus la concentration d'enzymes est élevée, plus l'interaction entre le substrat et les enzymes spécifiques qui dégradent les liaisons est importante donc le rendement en huile est important (**Teixeira et al., 2013**). Cependant, la dégradation de l'huile extraite se produit au-delà d'un certain point de saturation. Les effets négatifs de la sursaturation comprennent le développement de saveurs désagréables et d'amertume dans l'huile (**Jiang et al., 2010**).

Jusqu'à présent, peu de choses ont été faites pour déterminer la quantité spécifique d'enzyme requise pour une extraction efficace, mais généralement, plus de 1% du poids du substrat est nécessaire au minimum (**Nadar et al., 2018**).

Dans une étude pour extraire l'huile du fruit du palmier, **Teixeira et al. (2013)** ont appliqué une dose d'enzyme de 4 % (cellulase et pectinase) à un pH de 4,0 et une température de 50 °C pendant 30 min. Le rendement en huile était de 90 % à 93 %. Pour extraire l'huile des feuilles de laurier, les enzymes cellulase, hémicellulose et xylanase ont été utilisées à un rapport enzyme/substrat de 8, pH de 4,5 et 40°C pendant 1 h. Un rendement de 92,5% a été enregistré (**Boulila et al., 2015**). Dans une étude similaire, des pignons de pin ont été traités à l'Alcalase Endoprotéase enzyme à un pH de 8,4 et 51 °C pendant 3 h. La production d'huile était de 89,12 % avec un rapport enzyme/oléagineux de 1,5 (**Li et al., 2011**). Dans une autre étude, (**Konopka et al., 2016**) ont appliqué une dose de 2% de Rohapect UF, Rohament CL, et colorase enzymes aux graines de citrouille et maintenu un pH de 7,4 à 54°C pendant 15,4 heures. Ils ont enregistré un rendement en huile de 72,64 %. (**Womeni et al., 2008**) ont utilisé les enzymes Viscozyme et Alcalase sur le noyau de mangue de brousse pendant 18 heures. Le rapport noyau/enzyme était 0,19 et la concentration en enzyme était de 2 %. Le rendement le plus élevé enregistré a été de 68,0 %.

### II.4.5 Humidité

L'eau agit comme support pour l'extraction de l'huile, et facilite la diffusion et la mobilité de l'huile et des enzymes, ainsi que l'amélioration des réactions hydrolytiques nécessaires au processus de récupération (**Li et al., 2011**). La teneur en humidité de la matière oléagineuse est le principal déterminant de la quantité d'eau nécessaire pour éviter une suspension très épaisse.

Cependant, il faut également veiller à ne pas diluer l'enzyme dont la concentration est la clé du processus (**Kumar et al., 2017**).

### II.4.6 Agitation

Le régime d'agitation détermine le temps nécessaire pour que le processus soit terminé ainsi que la séparation de l'huile résultante de l'émulsion. L'agitation perturbe les barrières mécaniques et provoque un mélange uniforme des constituants, facilite ainsi le transfert de masse et réduit le temps de traitement. **Abdulkarim et al., (2006)** ont étudié l'impact de l'agitation dans la récupération d'huile de *Moringaoleifera* et a révélé que parmi les vitesses d'agitation de 50, 80 et 120 tr/min, cette dernière produisait des gouttelettes d'huile de plus grande taille qui étaient plus faciles à séparer du mélange. Cependant, selon la qualité, la quantité et le type d'oléagineux, l'agitation est liée à la formation d'une émulsion uniforme et stable qui devient difficile à séparer (**Yusoff et al., 2015**).

## II.5 Avantages de l'extraction enzymatique aqueuse

Les techniques d'extraction ont éliminé efficacement et avec succès les lacunes posées par les méthodes traditionnelles dans l'extraction des composants précieux des plantes et des semences. La supériorité de ces techniques sur les techniques conventionnelles réside dans l'amélioration de la qualité des produits extraits. Ils sont efficaces en termes de temps et la quantité de solvant consommée est moindre. De plus, ils sont respectueux de l'environnement, offrent un rendement élevé, sont rentables et des coproduits peuvent être obtenus sans aucune détérioration de la qualité (**Chemat et al., 2017**).

L'utilisation d'enzymes permet la séparation de composants sélectionnés sans modifier leurs propriétés, ce qui influence positivement les attributs sensoriels du produit final en termes de goût et d'odeur (**Yusoff et al., 2015**).

L'extraction enzymatique aqueuse présente un potentiel énorme car il peut extraire l'huile et les protéines simultanément en raison de l'insolubilité de l'eau dans l'huile ainsi que de la ségrégation et de la récupération des composés souhaités sans aucun dommage (**Li *et al.*, 2014**).

Les produits finaux sont parfaitement adaptés à la consommation humaine par rapport à d'autres méthodes d'extraction et l'huile obtenue à partir de l'extraction assistée par enzyme présente des propriétés de qualité supérieure. L'AEE est considéré comme le procédé le plus respectueux de l'environnement car il réduit la charge chimique générée par les solvants organiques. De plus, cette technique peut être utilisée pour extraire tout composé souhaité à partir de matières végétales. Cependant, son succès repose en grande partie sur une bonne compréhension de l'architecture de l'oléagineux. (**Kumar *et al.*, 2017**).

## **II.6 Inconvénients de l'extraction enzymatique aqueuse**

Malgré les avantages, l'application de l'extraction enzymatique aqueuse est encore limitée en raison de la longueur de temps de traitement et le coût élevé dépensé pour le processus de séchage après le traitement enzymatique. Le coût élevé peut également être attribué aux enzymes elles-mêmes car une quantité importante est nécessaire, normalement >1% du poids des graines oléagineuses prélevées, et également la non-disponibilité des enzymes à l'échelle commerciale (**Dominguez *et al.*, 1996 ; Shah *et al.*, 2005**).

Le coût élevé des enzymes et la production d'un rendement en huile inférieur à celui de la méthode d'extraction par solvant ont été les principaux inconvénients du procédé de l'extraction enzymatique aqueuse. De plus, il est impossible d'éviter après la méthode enzymatique l'émulsification de l'huile extraite, ce qui nécessite une désémulsification post-extraction pour récupérer et améliorer le rendement en huile (**Rosenthal *et al.*, 1998 ; Sineiro *et al.*, 1998a ; Santos *et al.*, 2005 ; Chabrand *et al.*, 2008 ; Wu *et al.*, 2009 ; Latif *et al.*, 2011 ; Longue *et al.*, 2011**)

Malgré les problèmes, l'intérêt de cette méthode pour l'extraction d'huile et de protéines a progressivement augmenté en raison des avantages environnementaux perçus.

## **II.7 Comparaison de la qualité de l'huile obtenue par extraction enzymatique aqueuse et par méthodes conventionnelles**

La plupart des auteurs ont rapporté les effets des méthodes d'extraction sur les caractéristiques de l'huile qui sont résumés sur le tableau V

**Tableau V:** Caractéristiques des huiles oléagineux par extractions par solvant, aqueuses enzymatiques.

Caractéristique de l'huile	Matériau huileux	Extraction par Solvant	Extraction aqueuse	Extraction enzymatique aqueuse	Référence
<b>Acides gras libre (%)</b>	Flocon de Soja extrudé	0,26	*	0,18 Protex 6L	Jung et al. (2009)
	graines de melon	0,60	*	0,90 Flavourzyme® 1000 L 0,90 Neutrased 0,8L	Nyam et al. (2009)
	Graines de lin moulues	140,80	*	161.20 Cellulase / Pectinase / Hémicellulase (1:1:1)	Longue et al. (2011)
	Son de riz moulu	95,40	*	97,18 Alcalase 0,6L	Hanmoungjai et al. (2001)
	Graine de tournesol	0.94	0.68	0.66Alcalase2.4L 0.69Protex7L 0.67Natuzyne	Latif et Anwar (2009)
<b>Indice de peroxyde (meq O<sub>2</sub>/kg)</b>	Flocon de Soja extrudé	6,50	*	4.05 Protex 6L	Jung et al. (2009)
	Graines de canola moulues	1.29	0,69	0,72 Multifect CX 13L 0,70 Protex 7L 0,71 Natuzyne 0,64 Pectinae-multifect FE	Nyam et al. (2009)
	Graine de melon	2.30	*	6.40 Flavourzyme® 1000 L 7.30 Neutrased 0,8L	Nyam et al. (2009)
	Son de riz moulu	8.20	12.01	0,8 Alcalase 0,6L	Hanmoungjai et al. (2001)

D'après le tableau V, les huiles obtenues par la plupart des traitements enzymatiques présentent une faible détérioration oxydative et rancissements, indiqués par les valeurs inférieures d'acides gras libres et de peroxyde par rapport aux huiles obtenues par des traitements aux solvants. Il a été supposé que la température élevée utilisée lors de l'extraction par solvant entraînait une qualité oxydante inférieure des huiles (**Latif et al., 2008 ; Latif et anwar, 2009 ; Latif et al., 2011**).

L'indice de peroxyde de l'huile de son de riz extrait par solvant était également plus élevé que celui extrait par voie enzymatique (**Hanmoungjai et al., 2001**).

En revanche, l'huile de graines de melon issue du procédé AEE a donné un indice d'acide gras libre et de peroxyde plus élevé que l'huile extraite au solvant. Cela peut être dû à l'activité lipase dans les graines lors du chauffage initial dans le cas du procédé AEE (**Nyam et al., 2009**). Certains des huiles extraites ont donné un indice d'iode plus élevé que les huiles extraites à l'eau et au solvant **Hanmoungjai et al. (2001) Et Longue et al. (2011)** ont rapporté qu'un indice d'iode plus élevée indiquait une teneur en acides gras polyinsaturés plus élevée, ce qui suggérait donc une activité antioxydant plus élevée.

De plus, les tocophérols totaux les plus élevés ont été observés dans la plupart des huiles des graines obtenues à partir de l'extraction enzymatique aqueuse, suivis des huiles extraites par voie aqueuse et par solvant. Il a été suggéré que la température plus élevée utilisée dans le traitement au solvant réduisait la teneur en tocophérol dans l'huile (**Latif et Anwar, 2011 ; Latif et al., 2011**). Les tocophérols totaux dans les huiles d'olive rapportés par **Ranalli et al. (2001)** et **Ranalli et al. (2003)** étaient également plus élevés lorsque l'extraction enzymatique aqueuse était utilisée par rapport aux extractions aqueuses sans enzymes. En revanche, **Yam et al. (2009)** ont rapporté une teneur totale en tocophérols plus faible dans l'huile de melon obtenue par l'extraction enzymatique aqueuse que la méthode d'extraction par solvant. Cela peut être dû à la production de composants au cours du processus de digestion dans l'extraction enzymatique aqueuse qui peuvent influencer la quantité de matière non saponifiable, y compris les tocophérols (**Pierre et al., 2000**).

En termes de teneur totale en phénols, les valeurs variaient selon les différents matériaux oléifères, les méthodes d'extraction employées et les types d'enzymes utilisées dans le procédé AEE. Dans le cas de l'huile d'olive, l'extraction enzymatique aqueuse a entraîné une teneur totale en phénols plus élevée que les extractions aqueuses sans enzymes. Cela peut être dû à l'hydrolyse de la paroi cellulaire par les enzymes utilisées, ce qui facilite davantage le partage des composés

phénoliques dans l'huile. La teneur en phénols influence positivement la stabilité à l'oxydation, la durée de conservation, les propriétés nutritionnelles, sensorielles et sanitaires de l'huile d'olive, en



plus de la saveur qui a obtenu un score sensoriel plus élevé (**Ranalli et De Mattia, 1997 ; Ranalli et al., 1999 ; Ranalli et al., 2003 ; Aliakbarien et al., 2008 ; Latif et Anwar, 2009 ; Latif et Anwar, 2011**). **Najafian et al., (2009)** ont également signalé qu'à une concentration en enzyme plus élevée, la teneur en phénols augmentait tandis que la turbidité de l'huile diminuait, ce qui peut être dû à l'effet enzymatique de réduction de la quantité de particules colloïdales.

Concernant la composition en acides gras, la plupart des auteurs ont rapporté des similitudes entre les huiles obtenues à partir de méthodes d'extraction par solvant et enzymatique (**Latif et al., 2008; Jung et al., 2009 ; Latif et Anwar, 2009; Nyam et al., 2009 ; Latif et al., 2011 ; Li et al., 2012 ; Zhang et al., 2011 ; Zhang et al., 2012 ; Teixeira et al., 2013**). Dans une étude menée par **Rui et al. (2009)**, la composition en acide gras de l'huile de pitaya obtenue à partir d'un traitement enzymatique prétraité aux micro-ondes était similaire à celle recommandée par la norme alimentaire américaine. (**Rui et al., 2009**) ont suggéré que l'irradiation aux micro-ondes augmentait le gonflement volumétrique des cellules dans les graines, ce qui provoquait la rupture des parois cellulaires, tandis que les enzymes hydrolysaient la paroi cellulaire et les liaisons entre la protéine ou la pectine. Une combinaison de ces méthodes a conduit à l'extraction d'huile de pitaya avec différents types d'acides gras par rapport à d'autres méthodes.

Dans le cas de l'huile de lin **Longue et al. (2011)** ont rapporté que le rendement en huile de l'ultrasonication pré-traitée par enzyme possédait des taux plus élevés en mono insaturés et acides gras polyinsaturés que l'huile de lin obtenue par extraction par solvant. Selon les auteurs, l'utilisation d'eau a permis la diffusion de composants hydrosolubles à la place de l'huile. Par conséquent, l'huile possédait une composition en acide gras approximativement similaire à l'huile de lin d'origine (**Longue et al., 2011**).

L'intensité de la couleur de l'huile avait également été signalée dans certaines études basées sur des unités rouges et jaunes; des valeurs plus élevées de ces unités correspondent à une intensité de couleur plus élevée. Dans le cas des graines oléifère, selon **Latif et al. (2011)** et **Abdelkrim et al. (2006)**, les différentes enzymes utilisées dans les processus d'extraction enzymatique aqueuse agissent sur différents composants des graines, ce qui a entraîné des rendements en huile ayant une intensité de couleur différente. Cependant, la différence était plus significative entre l'huile obtenue par d'extraction enzymatique aqueuse et les méthodes d'extraction par solvant, ce qui est similaire aux résultats rapportés par **Latif et al. (2008)** et **Nyam et al. (2009)** pour le melon et l'huile de graines de canola, respectivement. L'huile extraite au solvant avait une intensité de couleur plus élevée, ce qui peut être dû aux pigments extraits par le solvant comme les carotènes et les chlorophylles. L'huile obtenue à partir du processus d'extraction enzymatique aqueuse peut ne pas

avoir besoin d'être raffinée en raison de la faible intensité de la couleur qui réduit les coûts de traitement (**Abdelkrim et al., 2005 ; Abdelkrim et al., 2006 ; Latif et al., 2008 ; Latif et Anwar 2009 ; Nyam et al., 2009**).

Outre la couleur des huiles, les stérols étaient également significativement plus faibles dans l'huile obtenue par AEE que dans l'huile extraite au solvant, ce qui suggère la capacité du solvant utilisé à extraire les composants liposolubles (**Nyam et al., 2009**).

Dans le cas de l'huile de soja, avec l'utilisation d'enzymes, **Jung et al. (2009)** ont signalé une teneur en phosphore inférieure (<200 ppm) conforme aux spécifications des règles commerciales de la National Oil seed Processors Association pour l'huile de soja brute dégommée.

Dans l'ensemble, les méthodes d'extraction à base d'enzymes donnent des huiles avec de meilleures caractéristiques par rapport à l'huile obtenue à partir de méthodes d'extraction par solvant et aqueuse. Par conséquent, d'autres études sont souhaitables pour permettre une application industrielle par intensification (**Yusoff et al., 2015**).

# Conclusion

### Conclusions

Les graines oléagineuses (colza, tournesol et soja) sont classiquement valorisées, au travers des technologies de la trituration et du raffinage, sous forme d'huiles utilisées en alimentation humaine (consommation directe et industrie alimentaire).

Les méthodes d'extraction d'huile à partir de graines oléagineuses comprennent les méthodes conventionnelles (extraction par solvant et mécanique) et les techniques non conventionnelles ou améliorées (ultrasons, micro-ondes et extraction assistée par enzyme). Ces dernières sont innovantes et ont le potentiel d'améliorer les taux d'extraction d'huile, de raccourcir le temps d'extraction, et minimiser la détérioration de la qualité de l'huile.

L'extraction reste l'une des étapes les plus critiques car elle détermine la qualité et la quantité de l'huile extraite. La teneur en huile initiale est un facteur majeur qui détermine le choix des méthodes de transformation et d'extraction pour les différentes graines oléagineuses.

La mise en œuvre d'enzymes est encore peu courante dans l'extraction des matières grasses. Néanmoins l'usage de cellulases, d'hémicellulases et de protéases peut faciliter la dislocation des cellules oléifères et une extraction à des températures plus basse. Cela permet de garder une qualité aromatique caractéristique de la plante d'origine (huile de palme rouge, huile de coco, de colza, d'olive, d'avocat...). En outre, cela permet de réduire les traitements thermiques et l'usage des solvants et ainsi diminuer les coûts de production et de l'impact environnemental des huileries.

L'applicabilité du procédé enzymatique pour l'extraction d'huile à partir de différentes matrices oléagineuses a été démontrée. Cependant, ce procédé d'extraction n'a pas fait l'objet de réels développements à l'échelle industrielle. Les raisons avancées sont d'une part d'ordre financier. Le procédé global d'extraction est coûteux et les cocktails enzymatiques restent chers, bien que produits industriellement. De plus, l'extraction par voie enzymatique ayant lieu en milieu aqueux, la séparation liquide-liquide (eau-huile) est un facteur à prendre en compte pour l'évaluation globale du procédé. D'autre part, l'acceptabilité des enzymes est variable, de par leur origine (parfois porcine).

Malgré les problèmes, l'intérêt de cette méthode pour l'extraction d'huile a progressivement augmenté en raison des avantages environnementaux perçus.

# Liste Des Références

Liste Des Références

- Abdulkarim, S. M., Lai, O.M., Muhammad, S. K. S., Long, K., & Ghazali, H. M. (2006).** Use of enzymes to enhance oil recovery during aqueous extraction of *Moringa oleifera* seed oil. *Journal of Food Lipids*, 13, 113–130.
- Abdulkarim, S. M., Long, K., Lai, O. M., Muhammad, S. K. S., & Ghazali, H. M. (2005).** Some physico-chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods. *Food Chemistry*, 93, 253–263.
- Adler-Nissen, J. (1986).** In *Enzymic hydrolysis of food proteins*. Elsevier Applied Science Publishers, London et New-York, 1-425.
- Alais, C. (2003)** *Biochimie alimentaire*. 5<sup>ème</sup> édition. Dunod. Paris. P 250.
- Aliakbarian, B., Faveri, D. D., Converti, A., & Perego, P. (2008).** Optimization
- Assis J. R., Dos S. F. L. (2007)** Flores Perez V., Dariva C., de Oliveira A.P., de Oliveira J. V., Bastos Caramao E. The use of ultrasound in the extraction of *Ilex paraguariensis* leaves: A comparison with maceration. *Ultrasonics Sonochemistry*, Volume 14, Issue 1, pp. 6-12.
- Barrios, V. A., Olmos, D. A., Noyola, R. A., Lopez-Munguia, C. A. (1990).** Optimization of an enzymatic process for coconut oil extraction. *Oléagineux*, 45, 35-42.
- Boulila, A., Hassen, I., Haouari, L., Mejri, F., Amor, I. B., Casabianca, H., & Hosni, K. (2015).** Enzyme-assisted extraction of bioactive compounds from bay leaves (*Laurus nobilis* L.). *Industrial Crops and Products*, 74, 485–493.
- Cheah, S. C., Augustin, M. A., Ooi, L. C. L. (1990).** Enzymatic extraction of palm oil. *Palm Oil Res. Bull. Malaysia Bull.*, 20, 30-36.
- Christensen, F. M. (1989).** Enzyme technology versus engineering technology in the food industry. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 11, 249-265.

- Codex alimentarius, 1993.** Annexe V, avant-projet de norme pour les huiles végétales portant un nom scientifique. Compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *actualité en chimie* n° 270: 108-115
- De Faveri, D., Aliakbarian, B., Avogadro, M., Perego, P., & Converti, A. (2008).** Improvement of olive oil phenolics content by means of enzyme formulations: Effect of different enzyme activities and levels. *Biochemical Engineering Journal*, 41, 149–156.
- Dominguez H, Nunez M, Lema J.** Prétraitement enzymatique pour améliorer l'extraction d'huile à partir de fruits et de graines oléagineuses : une revue. *Chimie alimentaire* 1994; 49 : 271-286.
- Domínguez, H., Núñez, M. J., Lema, M. J. (1995).** Aqueous processing of sunflower kernels with enzymatic technology. *Food Chem.*, 53, 427-434.
- Dominguez, H., Sineiro, J., Núñez, MJ, Lema, JM (1996).** Traitement enzymatique de graines de tournesol avant l'extraction de l'huile. *International de la recherche alimentaire*, 28, 537-545.
- extraction of Moringa oleifera oil. *Food Chemistry*, 211, 400–408.
- Chen, F., Hao, L., Jiang, L., 2015.** « Progrès dans la préparation d'huiles végétales par la technologie enzymatique », *Journal de l'Université de technologie du Henan (édition des sciences naturelles)*, vol. 36, non. 5, p. 106-112.
- Fantozzi, P., Petruccioli, G., Montedoro, G. (1977).** Enzymatic treatment of olive pastes after single pressing extraction. Effect of cultivar, Harvesting time, and storage. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 54, 381-388.
- Frederic Fine<sup>1,a</sup>, Maryline Abert Vian<sup>2</sup>, Anne-Sylvie Fabiano Tixier<sup>2</sup>, Patrick Carre<sup>3</sup>, Xavier Pages<sup>4</sup> et Farid Chemat** *OCL* 2013, 20(5) A502 .

- Fullbrouk P.D., 1983** The use of enzymes in the processing of oil seeds J.A.O.C.S., Vol .60, N°2, Février, pp. 476-479.
- Hanmoungjai, P., Pyle, D. L., &Niranjan, K. (2001)**. Enzymatic process for extracting oil and protein from rice bran. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78, 817e821.
- Hardouin K, Burlot AS, Umami A, Tanniou A, Stiger-Pouvreau V, Widowati I, Bedoux G, Bourgougnon N (2014)** Biochemical et antiviral activities of enzymatic hydrolysates from different invasive French seaweeds. *J Appl Phycol* 26:1029–1042.
- J.-J. Liu, MAA Gasmalla, P. Li et R. Yang**, « Traitement d'extraction assistée par enzyme à partir de graines oléagineuses : principe, traitement et application » *Sciences alimentaires innovantes et technologies émergentes*, vol. 35, p. 184-193, 2016.
- Jahouache , W., 2002** : Décoloration des huiles végétales sur des argiles étude de la stabilité physicochimiques des huiles décolorées. Mémoire pour l'obtention du diplôme d'études approfondies en chimie organique.
- Jiang, L., Hua, D., Wang, Z., & Xu, S. (2010)**. Aqueous enzymatic extraction of peanut oil and protein hydrolysates. *Foods and Bioproducts Processing*, 88, 233e238.
- Jiang, L., Hua, D., Wang, Z., et Xu, S. (2010)**. Aqueous enzymatic extraction of peanut oil and protein hydrolysates. *Foods and Bioproducts Processing*, 88, 233–238.
- Johnson, L. A. (2000)** Recovery of fats and oils from plant and animal sources. *dans: Introduction to fats and oils technology*. Eds O'Brien, R. D., Farr, W. E., Wan, P. J., , AOCS Press, Champaign, Illinois, USA,
- Jung, S., Maurer, D., et Johnson, L. A. (2009)**. Factors affecting emulsion stability and quality of oil recovered from enzyme assisted aqueous extraction of soybeans. *Bioresource Technology*, 100, 5340e5347.



- Kalia vc ,rashim l .,sadhana l ., gupta mn .(2001)** using enzymes for oil recovery from edible seeds , journal of scientific and industrial resarch vol. 60 .298-310.
- Kaufmann, B., P. Christen, .(2001)**. "Parameters affecting microwave-assisted extraction of withanolides." *Phytochemical Analysis* 12: 327-331.
- Kumar, S. J., Kumar, G. V., Dash, A., Scholz, P., &Banerjee, R. (2017)**. Sustainable green solvents and techniques for lipid extraction from microalgae: A review. *Algal Research*, 21, 138–147.
- Kumar, S., &Majeranowski, P. J. (2017)**. US Patent Application No.15/595,133. Washington, DC: US Patent and Trademark Office.
- Lamsal, B. P., Murphy, P. A., & Johnson, L. A. (2006)**. Flaking and extrusion as mechanical treatments for enzyme-assisted aqueous extraction of oil from soybeans. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83(11), 973e979.
- Lanzani, A., Petrini, L. C., Cozzoli, O., Gallavresi, P. Carola, C., Jacini, G. (1975)**. On the use of enzymes for vegetable-oil extraction. *La Riv. Ita. Delle Sostan. Gra.*, 52, 226-229.
- Latif, S., & Anwar, F. (2009)**. Effect of aqueousenzymaticprocesses on sun flowe oilquality. *Journal of the American OilChemists'Society*, 73, 1663e1667.
- Latif, S., Anwar, F., Hussain, A. I., &Shahid, M. (2011)**. Aqueousenzymaticprocess for oil and protein extraction from*Moringaoleiferaseed*. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(8),1012–1018.
- Latif, S., Diosady, L. L., & Anwar, F. (2008)**. Enzyme-assisted aqueous Extraction of oil and proteinfrom canola (*Brassiccanapus L.*) seeds.*European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 887e892. Latif, S., & Anwar, F. (2011). Aqueousenzymaticsesameoil and

- Li, F., Yang, L., Zhao, T., Zhao, J., Zou, Y., Zou, Y., et al. (2012).** Optimization of enzymatic pretreatment for n-hexane extraction of oil from *Silybum marianum* seeds using response surface methodology. *Food and Bioprocess Technology*, 90, 87e94.
- Li, Y., Jiang, L., Sui, X., & Wang, S. (2011).** Optimization of the aqueous enzymatic extraction of pine kernel oil by response surface methodology. *Procedia Engineering*, 15, 4641–4652.
- Li, Y., Qi, B.K., Sui, X.N. (2016),** "Étude sur la désémulsification à la vapeur à haute pression de l'huile d'arachide extraite par extraction aqueuse assistée par enzyme," *Huiles et graisses de Chine*, vol. 41, non. 7, p. 6-9,.
- Long, J. J., Fu, Y. J., Zu, Y. G., Li, J., Wang, W., Gu, C. B., & Luo, M. (2011).** Ultrasound-assisted extraction of flax seed oil using immobilized enzymes. *Bioresource Technology*, 102(21), 9991–9996.
- Mac Glone, O. C., Canales A. L. M., Carter, J. V. (1986).** Coconut oil extraction by a new enzymatic process. *J. Food Sci.*, 51 (3), 695-697.
- Yusoff MM, Gordon MH et Niranjana K, (2014)** « Extraction d'huile assistée par enzyme aqueuse à partir de graines oléagineuses et méthodes de désémulsification d'émulsion : une revue », *Tendances en science et technologie alimentaires*, vol. 41, non. 1, p. 60-82.
- Nadar, S. S., Rao, P., et Rathod, V. K. (2018).** Enzyme-assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. *Food Research International*, 108, 309–330.
- Najafian, L., Ghodsvali, A., Haddad Khodaparast, M. H., et Diosady, L. L. (2009).** Aqueous extraction of virgin olive oil using industrial enzymes. *Food Research International*, 42, 171e175.

- Njussa M., 1999.** Etude des propriétés physico-chimiques des huiles végétales camerounaises. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du D.I.P.E.S.II, p 505.
- Nyam, K. L., Tan, C. P., Lai, O. M., Long, K., et Che Man, Y. B. (2009b).** optimization using response surface methodology. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(12), 1235-1240.
- Nyam, K. L., Tan, C. P., Lai, O. M., Long, K., et Man, Y. B. C. (2009).** Enzyme-assisted aqueous extraction of Kalahari melon seed oil: Optimization using response surface methodology. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(12), 1235–1240.
- Obergfoll H-M. (1997) .** The use of enzymes in the extraction of olive oil. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. Volume 4, Numéro 1, pp. 35-7.
- of olive oil extraction by means of enzyme process in gaidis using response surface methodology. *Biochemical Engineering Journal*, 42, 34–40.
- Olatounde, J. (2020)** les facteurs déterminants de marché mondial des huiles végétales . la direction de la planification, des politiques et des études économiques .vol, 28, pp 1-2
- Olsen, H. S. (1988).** Aqueous extraction of oil from seeds. In Asian food conference. Bangkok, Thailand, 24-26.
- Olsen, H.S. (1994).** Aqueous Enzymatic Extraction of Oil from Rapeseeds. *Manufacture of food and beverage* 14. Ressource internet: <http://www.p2pays.org/ref/10/09365.htm>.
- on the microstructure of soybean (*Glycine max*). *Industrial Crops and Products*, 36, 405–414.
- Passos, C. P., Yilmaz, S., Silva, C. M., & Coimbra, M. A. (2009) :** Enhancement of grape seed oil extraction using a cell wall degrading enzyme cocktail. *Food Chemistry*, 115(1), 48–53.

- Raghavendra, S. N., & Raghavarao, K. S. M. S. (2010).** Effect of different treatments for the destabilization of coconutmilk emulsion. *Journal of Food Engineering*, 97, 341e347.
- Rakotorimana S.R. (2010) :** Contribution à l'amélioration de la comestibilité de l'huile d'arachide artisanale par raffinage. Mémoire d'Ingénieur en Génie chimique. Université d'Antananarivo. P 110.
- Ranalli, A., et De Mattia, G. (1997).** Characterisation of olive oil produced with a new enzyme processing aid. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74, 1105e1113
- Ranalli, A., Malfatti, A., et Cabras, P. (2001).** Composition and quality of pressed virgin olive oil extracted with a new enzyme processing aid. *Journal of Food Science*, 66, 592e603
- Ranalli, A., Malfatti, A., Pollastri, L., Contento, S., et Lucera, L. (2003).** Analytical quality and genuineness of enzyme-extracted virgin olive oil. *Journal of Food Quality*, 26, 149e164.
- Ranalli, A., Martellini, N. (1994).** Extraction of oil from olive pastes by biological and not conventional industrial techniques. *Industrie Alimentare*, 33, 1073-1083.
- Ranalli, A., Sgaramella, A., et Surricchio, G. (1999).** The new "Cytolase 0" enzyme processing aid improves quality and yields of virgin olive oil. *Food Chemistry*, 66, 443e454.
- Rédaction : Julius Olatunde (2020),** de la Direction de la planification, des politiques et des études économiques ; Vol. 28, n° 1, 21 janvier .
- Rosenthal, A., Pyle, D. L., Niranjana, K., Gilmour, S., et Trinca, L. (2001).** Combined effect of operational variables and enzyme activity on aqueous enzymatic extraction of oil and protein from soybean. *Enzyme and Microbial Technology*, 28, 499e509.
- Rosenthal, A., Pyle, DL, Niranjana, K. (1998).** Extraction aqueuse simultanée d'huile et
- Rovaris, A., Balsamo, G. M., Costa, A. C. de O., Arisi, A. C. M., Micke, G. A., Piovezan, M., et al. (2013).** Chemical characterization of liquid residues from aqueous enzymatic extraction of soybean oil. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food*

- Rovaris, A. A., Dias, C. O., Cunha, I. P., Scaff, R. M. C., Francisco, A., Petkowicz, C. L. O. et al. (2012).** Chemical composition of solidwaste and effect of enzymaticoil extraction
- Rovaris, A. A., Dias, C. O., Da Cunha, I. P., Scaff, R. M. C., De Francisco, A., Petkowicz, C. L., et Amante, E. R. (2012) :** Chemical composition of solid waste and effect of enzymaticoil extraction on the microstructure of soybean. *IndustrialCrops and Products*, 36(1),405–414.
- Rui, H., Zhang, L., Li, Z., et Pan, Y. (2009).** Extraction and characteristics Of seed kernel oil from white pitaya. *Journal of Food Engineering*,93(4), 482–486.
- Rui, H., Zhang, L., Li, Z., et Pan, Y. (2009).** Extraction and characteristics of seed kernel oil from white pitaya. *Journal of Food Engineering*, 93, 482e486.
- Santos, R. D.,et Ferrari, R. A. (2005).** Extrac\_~ao aquosa enzim\_atica de \_oleo de soja. *Ciencia y Tecnolog\_ia Alimentaria*, 25(1), 132e138.
- Science and Technology, 51, 51–58.
- Shah, S., Sharma, A., Gupta, MN (2005).** Extraction de l'huile de Jatropha curcasL. graines de graines par combinaison d'ultrasons et d'extraction d'huile enzymatique aqueuse *Technologie des bio ressources*, 96, 121-123.
- Shallom D, Shoham Y. Hémicellulases microbiennes. Curr Opin Microbiol 2003; 6 : 219-228**
- Ricochon, G.; Muniglia, L.. Influence of enzymes on the oil extraction processes in aqueous media. *OCL*, 17(6), 356–359 (2010).
- Sharma, A., et Gupta, M. N. (2006).** Ultrasonicpre-irradiation effect upon aqueous
- Sharma,M., Dadhwal, K., Gat, Y., Kumar, V., Panghal, A., Prasad, R., Gat, P. (2019).** A review on newer techniques in extraction of oleagioleaginous flaxseed constituents. *Oilseeds and Fats, Crops and Lipids*, 26, 14–21.

- Sineiro, J., Dominguez, H., Núñez, MJ, Lema, JM (1998).** Optimisation de la traitement enzymatique lors de l'extraction aqueuse d'huile de graines de tournesol. *Chimie alimentaire*, 61, 467-474.
- Sowbhagya, H. B., Purnima, K. T., Florence, S. P., Appu Rao, A. G., & Srinivas, P. (2009).** Evaluation of enzyme-assisted extraction on quality of garlic volatile oil. *Food Chemistry*, 113, 1234e1238 .
- Tabtabaei, S., et Diosady, L. L. (2013).** Aqueous and enzymatic extraction processes for the production of food-grade proteins and industrial oil from dehulled yellow mustard flour. *Food Research International*, 52(2), 547–556.
- Teixeira, C. B., Macedo, G. A., Macedo, J. A., da Silva, L. H. M., et Rodrigues, A. M. D. C. (2013).** Simultaneous extraction of oil and antioxidant compounds from oil palm fruit (*Elaeis guineensis*) by an aqueous enzymatic process. *Bioresource Technology*, 129, 575–581.
- Tiritiaux A ET Gibon V G. (1997).** La désodorisation...à la carte, *O.C.L*, vo4, n°1, Janvier/Février, pp.45-50.
- Tiwari, B. K. (2015).** Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 100–109.
- United States Department of Agriculture (USDA);** compilation du MAPAQ Anderson, D. (2005) A primer on oils processing technology. *dans: Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. Eds Shahidi, F., John Wiley & Sons, volume 5, pp 1-56.
- Wu, J., Johnson, L. A., et Jung, S. (2009).** Demulsification of oil-rich emulsion from enzyme-assisted aqueous extraction of extruded soybean flakes. *Bioresource Technology*, 100(2), 527–533.

- Yoon, S. H., Kim, I. H., Kwon, T. W. (1991).** Effect of enzyme treatments and ultrasonification on extraction yields of lipids of protein from soybean by aqueous process. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 23, 673-676.
- Yusoff, M. M., Gordon, M. H., et Niranjan, K. (2015).** Aqueous enzym eassisted oil extraction fromoilseeds and emulsion de-emulsifying methods: A review. *Trends in Food Science &Technology*, 41(1),60–82.
- Zhang, S. B., Lu, Q. Y., Yang, H., Li, Y., et Wang, S. (2011).** Aqueous enzymatic extraction Of oil and protein hydrolysates from roasted peanut seeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88, 727–732.
- Zhang, S. B., Wang, Z., et Xu, S. Y. (2007).** Optimization of the aqueous enzymatic extraction of rapeseed oil and protein hydrolysates. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84, 97e105.
- Zhang, Y. L., Li, S., Yin, C. P., Jiang, D. H., Yan, F. F., et Xu, T. (2012).**Response surface optimisation of aqueous enzymatic oil extraction From bayberry (*Myrica rubra*) kernels. *Food Chemistry*, 135,304e308.