



جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane MIRA de BEJAIA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département de biologie physico-chimique

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par :

Adjaoud Kenza & Bedjaoui Rahima

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biochimie

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

Analyse physico-chimique et dosage du phosphore par deux procédés de raffinage chimique et enzymatique de l'huile de soja

Soutenu le 19 /06/ 2023 devant le jury composé de :

<i>Pr KHETTAL.B</i>	PROFESSEUR	Président
<i>Dr AOUDIA.H</i>	MCB	Examineur
<i>Mme FARHI-BOUADAM.B</i>	MCB	Promoteur
<i>Mme DJAFFRI.K</i>	ING	Co-Promoteur

Année universitaire 2022 – 2023

Remerciements

Au premier lieu nous tenons à remercier le bon Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons également à exprimer nos remerciements les plus sincères et les plus profonds à notre promotrice Mme FARHI B. Epouse BOUADAM, pour son encadrement, son encouragement et sa disponibilité, et pour nous avoir permis de bénéficier de ses conseils éclairés tout au long du développement de notre travail.

Nous tenons aussi à exprimer notre gratitude et remerciements aux membres de jury : Pr KHETTAL B. et Dr AOUDIA H. qui ont accepté de présider et d'examiner ce travail.

Sans oublier toute l'équipe du laboratoire de CO.G.B labelle de Bejaia en particulier notre Co-encadrant Mme K. Djaffri ainsi que Mme Zahira, pour leurs collaborations et conseils durant notre stage pratique.

Enfin, nous adressons nos remerciements les plus sincères à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail.

******KENZA ET RAHIMA******

DEDICACES

Au nom du tout puissant

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail A

*Celle qui m'a comblé d'amour, de soutien et de tendresse. A vous mon signe de douceur, de joie et de bonheur, à vous ma volonté, ma fierté et mon honneur :
Ma Mère.*

A celui qui a consacré toute sa vie pour me guider et m'assister : Mon Père Je souhaite qu'ils trouvent à travers ce mémoire le faible témoignage de leurs efforts et de leurs sacrifices.

A mon soutien dans la vie et mon bras droit, mes frères, mes sœurs chacun et chacune par son nom.

A mes deux chères copines, Yasmine et Wassila.

A celle que j'ai l'honneur de la connaître, mon amie Kenza.

A tout personne qui m'aime de près ou de loin.

RAHIMA

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui me sont chères

À mes chers parents, Quoi que je dise ou que je fasse, je n'arriverais jamais à vous remercier comme il se doit. C'est grâce à vos encouragements, vos bienveillances et votre présence à mes côtés, que j'ai réussi ce parcours.

Je souhaite que vous soyez fière de moi, et que j'ai pu répondre aux espoirs que vous avez fondé en moi.

À mon cher frère Ahcene, À mes deux chères sœurs Sabrina et Dyhia merci pour votre soutien moral, votre confiance et vos conseils précieux, qui m'ont aidé dans les moments difficiles.

À Ouazna je te dis merci pour ton aide, et surtout ton amour ; je te souhaite le bonheur et la réussite.

À mon âme sœur et ma meilleure amie d'enfance zaina, qui m'encourage depuis des années.

À mon amie Fatma, je lui souhaite le bonheur et la réussite dans sa vie.

À mon amie rahima je la remercie pour son soutien moral et sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

À toute ma famille et mes amies.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Synthèse bibliographique

Introduction	1
1.Huiles de soja	3
1.1.Généralités sur les corps gras.....	3
1.1.1.Origine	3
1.2.Présentation de la plante de soja	3
1.3.Composition de la graine de soja	5
1.4.Extraction de l'huile du soja	5
1.4.1.Composition de l'huile brute de soja	6
1.4.1.1. Acides gras	7
1.4.1.2.Composés insaponifiables	8
1.4.1.3.Phospholipides	8
2.Procédés du raffinage des huiles végétales	8
2.1.Différents procédés du raffinage de l'huile de soja	9
2.1.1.Procédé du raffinage chimique	10
2.1.1.1.Démucilagination ou dégommege	10
2.1.1.2.Neutralisation.....	12
2.1.1.3.Lavage.....	12
2.1.1.4.Séchage.....	12
2.1.1.5.Décoloration.....	12
2.1.1.6.Désodorisation	12
2.1.2.Procédé du raffinage enzymatique.....	13
2.1.2.1.Dégommege enzymatique	13
2.1.2.2.Caractérisation de l'enzyme utilisée : phospholipase A1 « quara ».....	13
2.2.Synthèse comparative entre les deux procédés du raffinage	14
2.2.1.Comparaison des étapes des procédés	14

2.2.2.Comparaison en termes d'avantages et d'inconvénients des deux procédés.....	15
---	----

Matériel et méthodes

1.Caractéristiques de l'huile brute.....	16
2.Analyses effectuées sur l'huile de soja	17
2.1.Analyses physico-chimiques.....	17
Les différentes analyses effectuées sont énumérées dans le tableau I.....	17
2.1.1.Analyses chimiques	17
2.1.1.1.Détermination d'acidité	17
2.1.1.2.Détermination d'Indice de peroxyde (NE 1.2-50-1985)	18
2.1.1.3.Détermination des traces du savon (NA 6341-1993)	19
2.1.2.Analyses physiques	20
2.1.2.1.Détermination de la couleur (NE 1.2-364-1989).....	20
2.1.2.2.Détermination de l'humidité (NE 1.2-47-1985).....	20
3.Raffinage enzymatique à l'échelle du laboratoire.....	21
3.1.Dégommage et caractérisation enzymatique	21
3.2.Décoloration	22
4.Dosage du phosphore (AOCS Ca 5a-40 AOCS.1997)	23

Résultats et discussion

1.Résultats d'analyses physico-chimiques	25
1.1.Huile brute.....	25
1.2.Huile lavée et séchée	27
1.3.Huile décolorée	28
1.4.Huile désodorisée	29
2.Dégommage enzymatique	30
2.1.Facteurs influençant le dégommage enzymatique	31
2.2.Résultats de la détermination d'acidité de l'huile dégommée (traitement enzymatique à l'échelle de laboratoire)	31
3.Résultats de dosage du phosphore.....	32
3.1.Résultats de dosage du phosphore dans l'huile brute et dans l'huile dégommée (chimique et enzymatique)	32

3.2.Résultats de dosage du phosphore de l'huile décolorée	35
Conclusion.....	37
Références bibliographiques.....	39
Annexe	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau I. Classification de l'espèce <i>Glycine max</i> (soja).....	5
Tableau II. Composition moyenne de l'huile de soja.....	7
Tableau III. Constituants indésirables de l'huile éliminée au cours du raffinage.....	9
Tableau IV. Caractéristiques de raffinage chimique et enzymatique.....	14
Tableau V. Avantages et inconvénients du raffinage chimique et enzymatique.....	15
Tableau VI. Analyses physico-chimiques effectuées sur les différents échantillons.....	17
Tableau VII. Résultats d'analyse de l'huile brute de soja.....	25
Tableau VIII. Résultats d'analyse de l'huile lavée et séchée.....	27
Tableau IX. Résultats d'analyse de l'huile décolorée.....	28
Tableau X. Résultats d'analyse de l'huile désodorisée.....	29
Tableau XI. Résultats de mesure de l'acidité de l'huile dégommée.....	31

Liste des figures

Figure n°01. Morphologie externe de la plante de soja.....	4
Figure n°02. Graine de soja.....	4
Figure n°03. Composition nutritionnelle de la graine de soja.....	5
Figure n°04. Opération unitaires du procédé de trituration	6
Figure n° 05. Formule chimique développée des 3 types d'acides gras	7
Figure n°06. Formule chimique générale des phospholipides, et notamment des phosphatidylcholines	8
Figure n°07. Les étapes de raffinage des huiles par voie chimique.....	10
Figure n°08. Mécanisme de la réaction de dégomme à l'eau.....	11
Figure n°09. Mécanisme de la réaction de dégomme à l'acide.....	11
Figure n°10. Réaction catalysée par la phospholipase A1 (PLA1).....	14
Figure n°11. Echantillon de l'huile brute de soja fournis par CO.GB.....	16
Figure n°12. Appareil de mesure colorimétrique « Lovibond ».....	20
Figure n° 13. Etapes de dégomme enzymatique à échelle de laboratoire.	22
Figure n° 14. Décoloration de l'huile lavée et séchée avec la terre décolorante.....	23
Figure n°15. Etape de dosage du phosphore.....	24
Figure n°16. Evolution du taux de phosphore lors de dégomme chimique et enzymatique de l'huile de soja.....	32
Figure n°17. Evolution du taux de phosphore dans l'huile décolorée et désodorisée de soja (chimique et enzymatique)	36

Liste des abbreviations

A.O.C.S: American oil chemistry society.

PC : phosphatidylcholine.

PE : phosphatidyléthanolamine.

PI : phosphatidylinositol.

AGL : Acides gras libres.

PL : phospholipides.

Ppm : Partie Par Million.

PH : Phosphatides hydratables.

PNH : Phosphatides non hydratables.

NaOH : Hydroxyde de soude.

H₃PO₄ : Acide phosphorique.

KOH : Hydroxyde de potassium.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

HCL : Acide chlorhydrique.

KH₂PO₄ : Dihydrogénophosphate de potassium.

PLA1 : Phospholipase A1.

PLA1 : Phospholipase A1.

CO.G.B : Corps gras de Bejaia.

NE : Norme d'entreprise.

NA : Norme algérienne.

A : Acidité.

I_i : Indice d'iode.

I_p : Indice de peroxyde.

Introduction

Introduction

Les huiles constituent une partie importante de l'alimentation humaine et contiennent de nombreux nutriments essentiels (**Fine et al., 2013**). En 2012, la production mondiale des huiles végétales a atteint 186,4 millions de tonnes. Plus de 70 % de la production provient de cinq oléagineux : palmier (29 %), soja (22 %), colza (13 %), tournesol (8 %) et olive (2 %) (**Régis et al., 2016**).

Le soja est le premier oléagineux mondial qui est riche en protéines de bonne qualité qui représentent 20% d'huile (**Labalette et al., 2010**). La qualité de cette huile revient à la norme de ses paramètres physico-chimiques, tels que l'indice de peroxyde et celui de l'acidité (**Benbouriche et al., 2022**).

L'huile de soja malgré ces grandes valeurs nutritives et son pouvoir bénéfique pour la santé, elle ne peut pas être consommée à son état brut (**Li et al., 2014; Thakkar et Parikh, 2014**).

Donc il est essentiel de réduire ou d'éliminer des contaminants et des composés indésirables qu'elle contient, afin de la transformer à un produit comestible avec une meilleure stabilité oxydative, les mécanismes de cette transformation peuvent se faire par un processus appelé le raffinage (**Kim et Choe, 2005; Liu et al., 2015 ; Farhoosh et al., 2019**).

Le raffinage de l'huile peut se faire par trois procédés à savoir : chimique (à l'acide), physique (à l'eau) ou également par un procédé enzymatique, qui fait intervenir des phospholipases (**Motri et al., 2021**). A cet effet, ce dernier est le plus efficace et le plus respectueux de l'environnement comparativement au procédé chimique (**Jiang et al., 2014**).

Les phospholipides sont parmi les éléments indésirables (**Cmolik et Pokorny, 1995; Bora, 2013**), leur élimination est indispensable. Cette dernière s'effectue lors de la première étape du raffinage qui est le dégommeage (**Dijkstra, 2010**) et elle se poursuit au cours des autres étapes ultérieures du raffinage (**Dijkstra 2011; Yu et al., 2012**).

A l'échelle mondiale, plusieurs travaux ont été réalisés sur le raffinage chimique des huiles, notamment ceux de **Ghazani et Marangoni, (2013)** sur l'huile de canola ; **Pal et al. (2014)** sur l'huile de tournesol et **Ortega-García et al. (2005)** sur l'huile de soja.

En Algérie, nous pouvons citer le travail de **Benbouriche et al. (2022)** et quelques mémoires de fin d'études réalisés dans les unités industrielles nationales productrices des huiles végétales (CO.GB Labelle et le groupe CEVITAL).

Le raffinage enzymatique, à l'échelle industrielle, a été étudié par **Yang et al. (2006); Yang et al. (2008); Yang et al. (2019)** et **Beig-Mohammedi et al. (2021)**.

Cependant la seule étude que nous avons pu trouver sur le raffinage enzymatique à l'échelle de laboratoire est celle de **Motri et al. (2021)** sur l'huile de soja de Tunisie.

En Algérie on assiste à un manque de données sur le raffinage enzymatique, c'est pour cela nous avons essayé de l'apporter par cette contribution. Alors, notre problématique, proposée par l'organisme d'accueil COGB LABELLE, est de chercher quelle est parmi les deux procédés est le mieux dans l'élimination du phosphore dans l'huile de soja :

Est-ce que c'est le raffinage chimique qui se fait actuellement au niveau de l'unité CO.G.B Labelle; Ou bien de faire intervenir une enzyme pour réaliser le raffinage enzymatique.

C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail qui vise à l'identification sur le plan expérimental la différence entre les deux types de raffinage, en question, afin d'obtenir une huile de qualité prête à la consommation, et d'étudier de près les différentes analyses physico-chimiques sur l'huile de soja.

En premier lieu, nous présenterons dans ce mémoire une synthèse bibliographique dans laquelle nous allons parler sur des généralités de corps gras et des principales connaissances sur l'huile de soja ; par la suite, nous allons étudier les procédés de raffinage chimique et enzymatique de l'huile de soja. Enfin, la partie expérimentale sera consacrée aux différentes méthodes d'analyses physico-chimiques et au raffinage enzymatique, puis au dosage du phosphore, ainsi qu'aux différents résultats obtenus. En fin, une conclusion qui résumera les résultats les plus marquant de notre travail et dans laquelle quelques perspectives seront proposées.

1. Huiles de soja

1.1. Généralités sur les corps gras

Les lipides encore appelés corps gras sont des acides gras et leurs dérivés (**Christie, 2003**). Les lipides alimentaires apportent une contribution importante à la satisfaction des besoins de l'organisme. Avec les glucides et les protéines, ils représentent l'un des trois principaux nutriments de notre alimentation (**Bauer et al., 2010**).

1.1.1. Origine

Les corps gras de nos aliments sont généralement extraits de tissus animaux (viande) ou de produits dérivés comme le lait, également ils peuvent être d'origine végétale extraits à partir des graines comme l'huile de soja ou à partir des fruits comme l'huile d'olive. Il existe aussi les huiles extraites à partir des organismes marins (**Bauer et al., 2010**). Cependant, les huiles végétales représentent une large classe de corps gras en termes de la richesse des composants, de la qualité et de la diversité des goûts. Ces derniers sont désignés selon leurs propriétés physico-chimiques, leur mode de fabrication, leur composition en AG, vitamines, composés mineurs et leur utilisation (**Lecerf, 2011**). Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'huile végétale de soja.

1.2. Présentation de la plante de soja

Le soja (*Glycine max*) est une plante annuelle de la famille des légumineuses (Fig.01), originaire d'Asie, elle est utilisée en nutrition humaine sous forme de produits traditionnels depuis plus de trois mille ans, sa culture est implantée dans l'Amérique et plus récemment en Europe (**Chevalier et al., 2016**) La richesse de ses graines en protéines et en huiles lui confère une importance dans le domaine agroalimentaire (Fig.02). Sa classification botanique est fournie dans le tableau I.



Figure n°01. Morphologie externe de la plante de soja (Whoriskey, 2009).

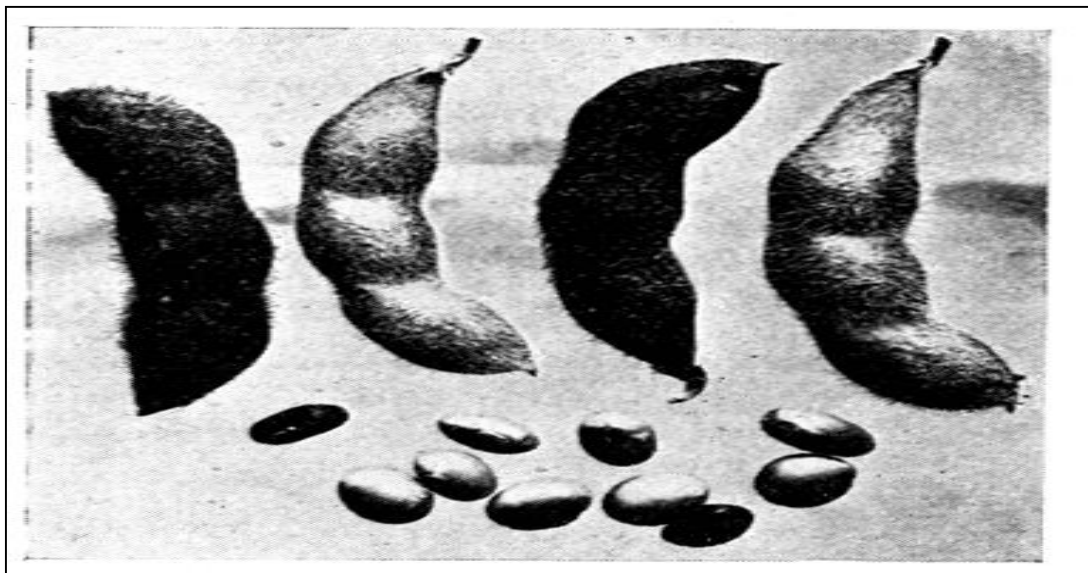


Figure n°02. Graine de soja (Gay, 1935).

Tableau I. Classification de l'espèce *Glycine max* (soja) (Classification | USDA PLANTS).

Classification	Cronquist
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Super division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta (Angiosperme)
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédon)
Sous classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Famille	<i>Glycine</i> Willd.
Genre	<i>Glycine max</i> (L.) Merr.
espèce	

1.3.Composition de la graine de soja

Les graines de soja sont une source d'acides gras insaturés (oméga 9,6,3) ainsi que d'autres micronutriments (stérols, tocophérols) connus par leurs effets bénéfiques sur la santé (Régis *et al.*, 2016). C'est l'une des graines végétales les plus riches en protéines (9 acides aminés essentiels) et en lipides (Fig.03) (Chevalier *et al.*, 2016).

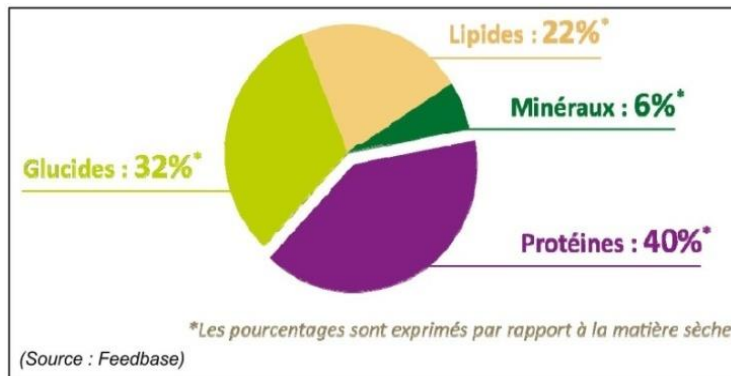


Figure n°03.Composition nutritionnelle de la graine de soja (Chevalier *et al.*, 2016).

1.4.Extraction de l'huile du soja

L'huile végétale brute est produite lors du pressage des graines oléagineuses (Régis *et al.*, 2016). La qualité de la matière première (graine) est essentielle pour pouvoir garantir la qualité de l'huile produite (Morin *et Pagès- Xatart-Parès*, 2012).

L'opération de pressage comporte trois étapes principales (Fig. 04) (Evrard et al., 2007; Bauer et al., 2010 ; Fine et al., 2013).

- La préparation des graines (broyage et tamisage) ;
- L'extraction mécanique (pressage) ;
- L'extraction par solvant (hexane) (Régis et al., 2016).

Les huiles brutes de pression et d'extraction sont ensuite mélangées puis raffinées afin de fournir aux consommateurs une huile de qualité (Devillers et al., 2010).

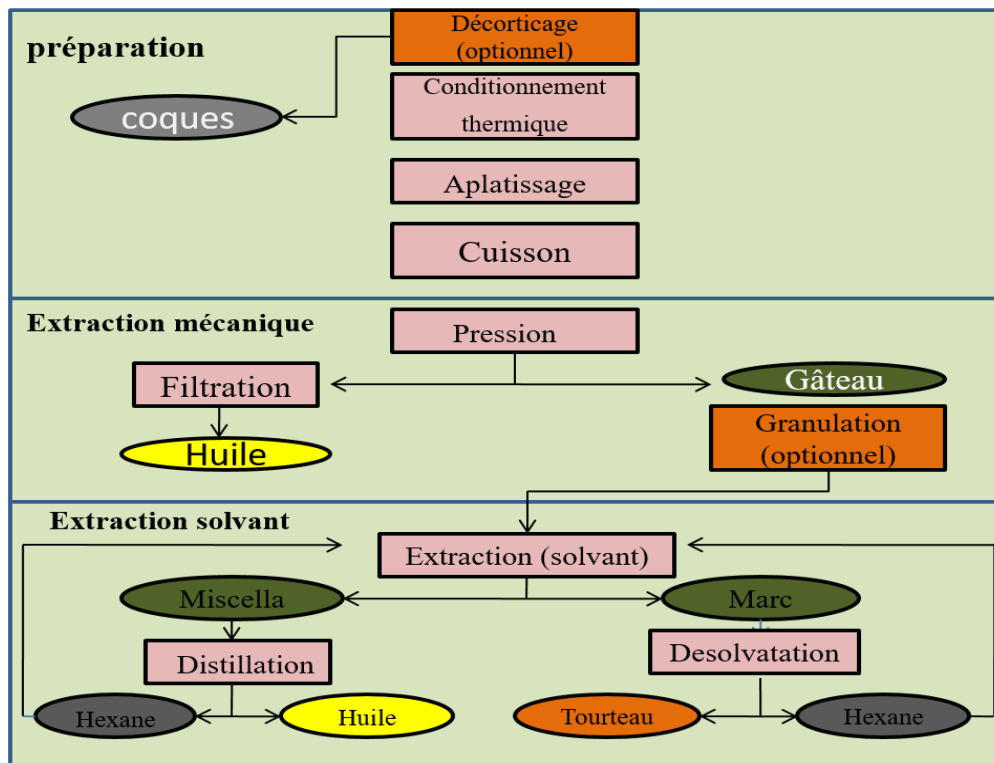


Figure n°04. Opérations unitaires du procédé de trituration (Fine et al., 2013).

1.4.1. Composition de l'huile brute de soja

L'huile de soja obtenue après l'extraction est appelée l'huile brute, elle renferme divers composants (Tableau.II).

- Les triglycérides prédominent (95-99%) : ils sont constitués de glycérol (3-5%) et d'acides gras (90-95%).
- D'autres composants sont naturellement présents en petites fractions à savoir les lipides polaires comme les phospholipides (0,1-0,2 %) et les composés dits insaponifiables (0,1-3 %) représenté majoritairement par les stérols et les tocophérols (Morin et Pagès- Xatart-Parès ,2012).

Tableau II. Composition moyenne de l'huile de soja (Pryde,1980).

Composants	Leur (%) ou ppm dans l'huile brute
Triglycérides	95-97(%)
Phosphatides	1,5- 2,5(%)
Acides gras libre	0,3- 0,7(%)
Substances insaponifiables	1,6(%)
Stérols	0,03(%)
Tocophérols	0,15 -0,21(%)
Hydrocarbures	0,014(%)
Traces de métaux	1 -3(ppm)
Fer	0,03- 0,05(ppm)
Cuivre	

1.4.1.1.Acides gras

Les acides gras sont des acides carboxyliques(R-COOH), constitués d'une longue chaîne hydrocarbonée possèdent un nombre variable d'atome de carbone (2 à 36) et de doubles liaisons (0 à 6) de configuration cis et trans. Ils sont composés plus rarement de groupement méthyle (-CH₃), hydroxyle (-OH) ou des cyclopropanes (**Bauer et al., 2010**). Il existe des acides gras saturés, mono insaturés et polyinsaturés (Fig.05)

La teneur en acide α -linoléique représente 9,8% des acides gras pour l'huile de soja contre 18% d'acides gras totaux (**Vorin et al., 2003**).

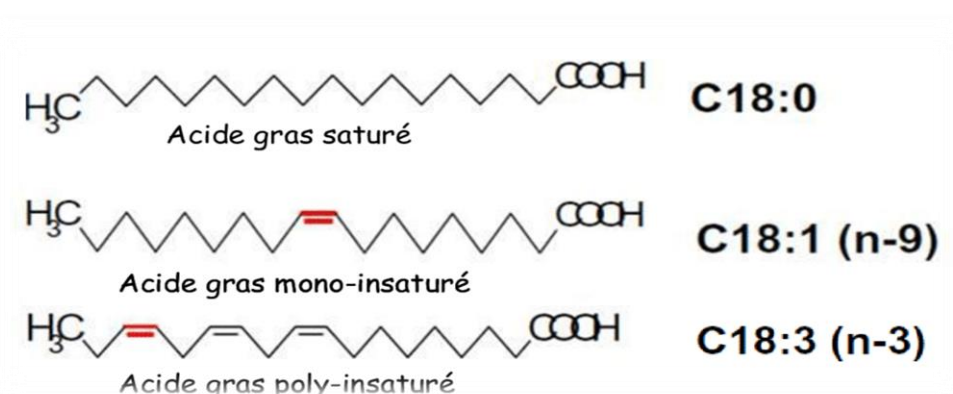


Figure n°05. Formule chimique développée des 3 types d'acides gras (Dubois, 2012).

1.4.1.2. Composés insaponifiables

Sont les composés mineurs non glycéridique (0,1 à 3 %), dont on trouve les stérols, les tocophérols (Morin et Pagès- Xatart-Parès, 2012). Ils sont peu solubles dans l'eau et soluble dans les solvants organiques (Giuffrè et al., 2012).

1.4.1.3. Phospholipides

En général, toutes les huiles contiennent des phospholipides hydratables (Fig. 06), ils sont sous formes de groupements fortement polaires phosphatidylcholine (PC) 35% et phosphatidyléthanolamine (PE) 25% qui sont facilement éliminées. Et d'autres non hydratables qui sont les sels de calcium et de magnésium de l'acide phosphatidique et du phosphatidylinositol (PI) (Bauer et al., 2010; Motri et al., 2021).

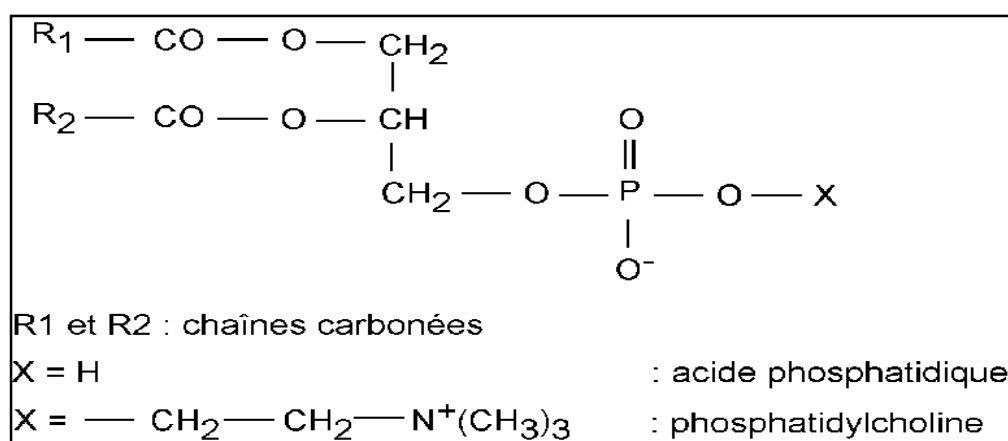


Figure n°06. Formule chimique générale des phospholipides, et notamment des phosphatidylcholines (Bonneau, 2003).

2. Procédés du raffinage des huiles végétales

Le raffinage est le processus responsable de la transformation de l'huile brute en un produit purifié, fini et comestible (Evrard et al., 2007 ; Chew et Ali, 2021). En effet, il élimine et minimise les impuretés ou les substances indésirables telles que les acides gras libres (AGL), les pigments, les traces métalliques, ... (Tableau.III) à un niveau acceptable pour la consommation humaine, en atténuant ainsi les effets nocifs en stabilisant l'huile (Pal et al., 2014). La durée de conservation des huiles végétales est en relation avec la présence et la quantité des impuretés (Yang et al., 2006). Selon Morin et Pagès- Xatart-Parès (2012), le

Synthèse bibliographique

raffinage contribue aussi à la préservation des substances d'intérêts tels que les antioxydants (tocophérols, vitamine E, etc.) et à l'amélioration des propriétés organoleptiques (goût, odeurs neutres, limpidité et couleur jaune clair) (Fine et al., 2013).

Tableau III. Constituants indésirables des huiles éliminés au cours du raffinage (Evrard et al., 2007).

Nature des constituants	Origine	Inconvénients de leur présence
Acides gras libres	Constituants naturels libérés par hydrolyse	<ul style="list-style-type: none">○ Catalyseur d'oxydation○ Goût fumé à chaud○ Hydrolyse○ Instabilité organoleptique
Phospholipides	Constituants naturels	<ul style="list-style-type: none">○ Aspect trouble○ Instabilité organoleptique○ Dépôt, brunissement à chaud
Produits d'oxydation	Auto-oxydation	<ul style="list-style-type: none">○ Instabilité organoleptique○ Couleur
Flaveurs	Auto-oxydation Constituants naturels	<ul style="list-style-type: none">○ Odeur et goût
Cires	Constituants naturels	<ul style="list-style-type: none">○ Aspect trouble
Pigments	Constituants naturels	<ul style="list-style-type: none">○ Couleur○ Instabilité organoleptique
Métaux (fer, cuivre)	Constituants naturels Contamination	<ul style="list-style-type: none">○ Catalyseur d'oxydation
Contaminants Métaux lourds Pesticides HAP Mycotoxines	Contamination	<ul style="list-style-type: none">○ Santé○ Hygiène alimentaire

2.1. Différents procédés du raffinage de l'huile de soja

L'huile brute de soja peut être grossièrement raffinée par trois processus principaux : le raffinage physique, le raffinage chimique et le raffinage enzymatique (Motri et al., 2021). Dans notre travail, nous nous sommes intéressés beaucoup plus au raffinage chimique, processus proposé par l'entreprise d'accueil COGB LABELLE, et enzymatique à l'échelle de laboratoire, processus que nous avons proposé nous même à réaliser dans toutes ces étapes pour la première fois dans la dite entreprise.

2.1.1. Procédé du raffinage chimique

Le raffinage chimique des huiles végétales est la méthode la plus importante et la plus couramment utilisée (Yang *et al.*, 2006). Elle permet d'éliminer les AGL par une étape de neutralisation à la soude caustique (Pages *et al.*, 2010).

Le raffinage nécessite plusieurs étapes : dégommeage, neutralisation, lavage, séchage, décoloration et désodorisation (Fig.07). Chaque étape joue un rôle essentiel et spécifique dans l'élimination des composés indésirables (Jamoussi *et al.*, 2022).

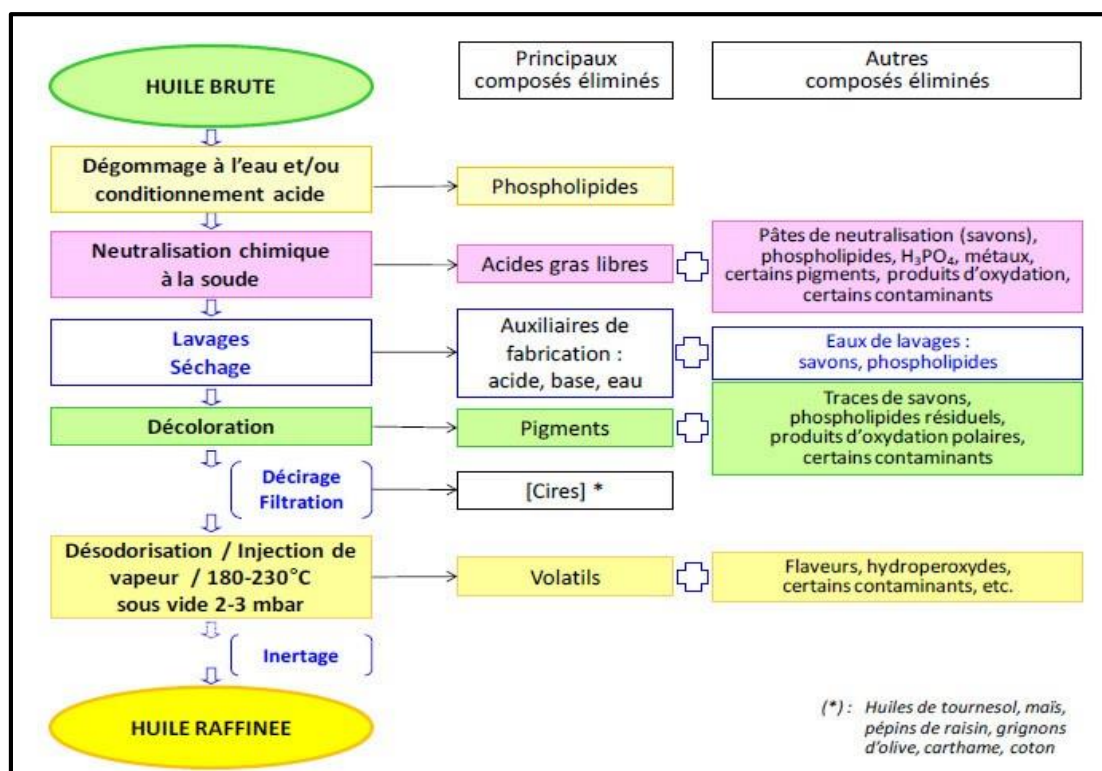


Figure n°07. Les étapes de raffinage des huiles par voie chimique (Evrard *et al.*, 2007; Devillers *et al.*, 2010).

2.1.1.1. Démucilagination ou dégommeage

La démucilagination est la première étape de raffinage (Motri *et al.*, 2021) qui a pour objectif d'éliminer les PL (phospholipides) et d'autres substances mucilagineuses (Yu *et al.*, 2012) ainsi que de réduire le taux de phosphore à un niveau bas (<10 ppm) avant de passer à l'étape suivante de raffinage (Chew *et al.*, 2017).

Il existe plusieurs méthodes pour séparer les PL et les mucilages dans l'huile brute de soja tels que le dégommeage à l'eau, le dégommeage à l'acide et celui avec l'emploi des enzymes (Motri et al., 2021). Le procédé le plus utilisé consiste à disperser des acides forts (acide phosphorique, acide citrique) dans l'huile brute pour séparer les mucilages (Bauer et al., 2010), qui sont principalement composés de phospholipides (PH hydratables et PNH non hydratables) (Motri et al., 2021).

Le mécanisme consiste à l'ajout de l'eau à l'huile brute contenant des phospholipides hydratables, induit la formation d'une turbidité et des précipitations progressives à l'interface (huile-eau) suite à la combinaison des groupements polaires des phospholipides avec l'eau pour former des feuillettes moléculaires (Fig.08) (Motri et al., 2021).

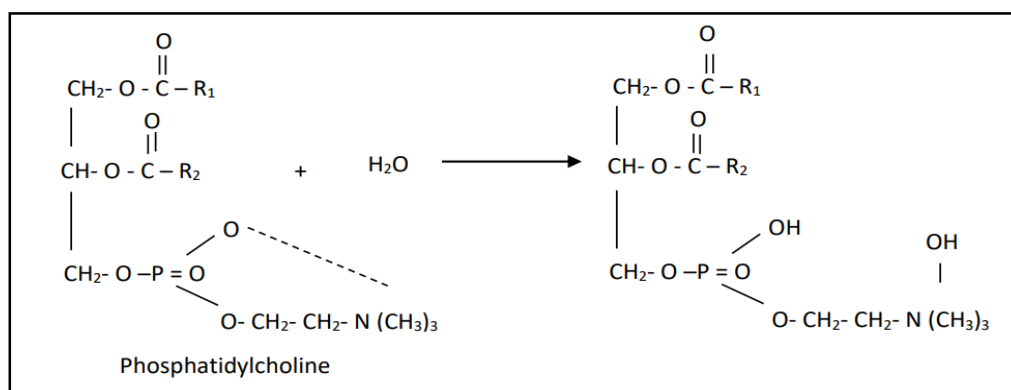


Figure n°08. Mécanisme de la réaction de dégommeage à l'eau (Benbouabdellah et Benkhoudja., 2001).

Les formes non hydratables des phospholipides (PNH) peuvent réagir avec des acides forts pour former des sels monovalents, qui deviennent hydratables et forment des composés insolubles dans l'huile (Fig.09) (Zufarov et al., 2008).

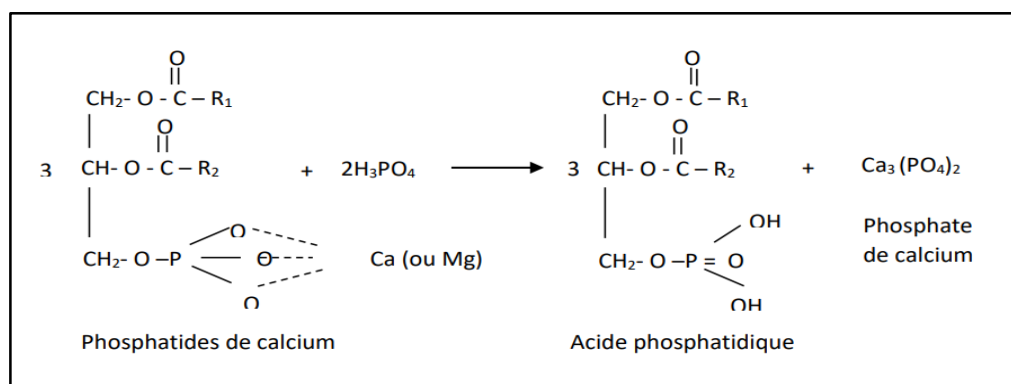


Figure n°09. Mécanisme de la réaction de dégommeage à l'acide (Benbouabdellah et Benkhoudja., 2001).

2.1.1.2.Neutralisation

La neutralisation à la soude est une étape qui consiste principalement à éliminer les acides gras libres sous forme du savon (Evrard *et al.*, 2007), communément appelés pâtes de neutralisation ou soapstocks, qu'on élimine par centrifugation et ne devrait pas dépasser 3% dans les huiles brutes (Bauer *et al.*, 2010 ; Ghazani et Marangoni, 2013).

2.1.1.3. Lavage

Le lavage s'effectue avec l'eau chaude à 90°C, dans le but d'éliminer complètement le savon, l'excès de soude, les dernières traces des métaux et les phospholipides par centrifugation. Cette opération est plus efficace lorsqu'un deuxième lavage est effectué (Bauer *et al.*, 2010).

2.1.1.4.Séchage

Cette étape est nécessaire pour éliminer l'humidité présente dans l'huile par pulvérisation dans un sécheur sous vide (Ghazani et Marangoni, 2013), afin d'éviter le colmatage rapide des filtres et assurer le bon déroulement des étapes suivantes de raffinage (Bauer *et al.*, 2010).

2.1.1.5.Décoloration

C'est la dernière étape avant la désodorisation, elle vise à éliminer les pigments responsables de la couleur foncée indésirable (chlorophylle, caroténoïdes) par voie physique en utilisant des agents décolorants (terres décolorantes, charbons actifs, etc.) (Bauer *et al.*, 2010).

2.1.1.6.Désodorisation

La désodorisation consiste à éliminer les substances volatiles indésirables par distillation, à la vapeur d'eau sous vide, très poussée (Régis *et al.*, 2016). Cette dernière est indispensable à la fin de processus du raffinage pour améliorer la qualité et le goût de l'huile végétale (Jamoussi *et al.*, 2022).

2.1.2. Procédé du raffinage enzymatique

2.1.2.1. Dégommage enzymatique

C'est la méthode la plus récente pour le dégomme des huiles végétales, qui a été développée dans les années 1990 par la société allemande Lurgi impliquant le processus «EnzyMax » (Aalrustet *al.*, 1992). Elle est convenable pour le procédé physique (Yang et *al.*, 2006), qui a pour but d'hydrolyser les phospholipides non hydratés en une forme hydratée, par des phospholipases (Yang et *al.*, 2008).

Ce procédé comporte quatre étapes importantes :

- Ajustement des conditions optimales de réaction de l'enzyme, pH et température ;
- Ajout de l'enzyme ;
- Déclenchement de la réaction enzymatique ;
- Séparation des lyso-phospholipides de l'huile (Yang et *al.*, 2006).

L'huile obtenue à la fin de procédé possède une teneur en phosphore <10 ppm (Yang et *al.*, 2008). Cette dernière poursuit un raffinage physique. Elle est ainsi envoyée directement à la section de décoloration sans passer par l'étape de neutralisation. En effet, l'élimination des AGL dans ce cas se fera par distillation, sous vide, au cours de la désodorisation (Yu et *al.*, 2012).

2.1.2.2. Caractérisation de l'enzyme utilisée : phospholipase A1 « quara »

Quara, est une enzyme qui est développée par Novozymes, utilisée pour la première fois en 2016. Est une phospholipase de troisième génération (A1) d'origine microbienne (Annexe 3 : Fiche de donnée de l'enzyme : QUARA).

La phospholipase A1 (PLA1) est une enzyme hydrolytique qui catalyse l'élimination du groupe acyle de la position sn-1 du phospholipide pour former des lyso-phospholipides et des acides gras libres (Fig.10) (Fu et *al.*, 2008).

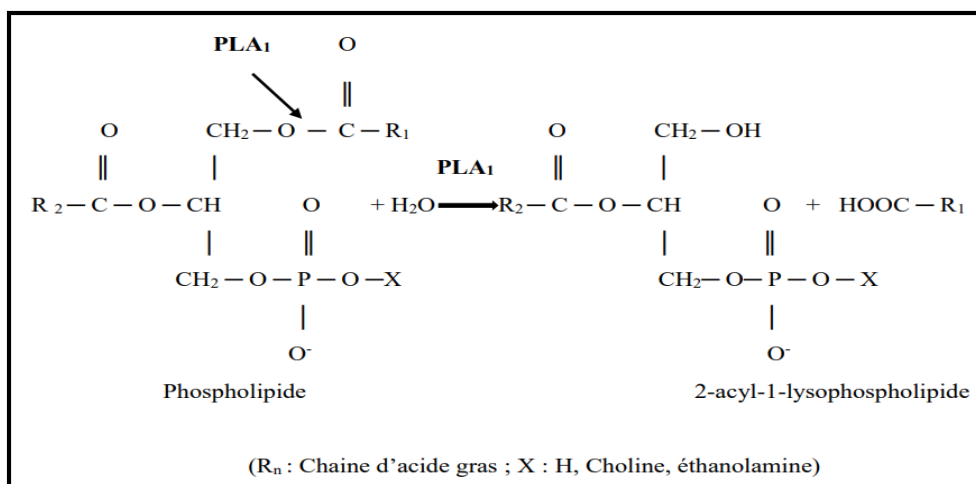


Figure n°10. Réaction catalysée par la phospholipase A1 (PLA1) (Dayton et Galhadro, 2008)

2.2.Synthèse comparative entre les deux procédés du raffinage

2.2.1.Comparaison des étapes des deux procédés (enzymatique et chimique)

Les étapes des deux procédés que nous avons suivi dans notre étude présentent des caractéristiques spécifiques dont les principaux sont synthétisés dans le tableau IV.

Tableau IV. Caractéristiques de raffinage chimique et enzymatique (Karleskind et Denise,1992 ; Munch, 2004).

	Raffinage chimique	Raffinage enzymatique
Démucilagination	-Elimination des mucilages à l'aide des solutions chimiques(acide phosphorique ou citrique).	-Démucilagination avec une enzyme« QUARA ».
Neutralisation	-Avec la soude caustique transformation des acides gras libres en savons.	-L'ajout de la soude caustique à (14%) pour ajuster le pH nécessaire pour l'activité de l'enzyme, une petite quantité de l'acide citrique.
Séparation	-L'huile dégommée neutraliser est séparer des savons et d'autres impuretés indésirables.	-L'huile dégommée est séparer des mucilages par centrifugation, l'enzyme est dénaturée à 80°C.
Lavage	-Avec de l'eau purifiée pour éliminer les substances alcalines, les dernières traces de métaux, PL et d'autres substances.	-Pas de lavage.
Séchage	-A l'aide d'un sécheur sous vide afin d'éliminer l'humidité dans l'huile lavée.	////////////////////////////////////

2.2.2. Comparaison en termes d'avantages et d'inconvénients des deux procédés

Comme toutes autres techniques réalisées à l'échelle d'un laboratoire, les deux procédés que nous avons suivi dans notre travail, présentent des avantages et des inconvénients dont les principaux sont mentionnés dans le tableau V.

Tableau V. Avantages et inconvénients du raffinage chimique et enzymatique (Novozymes, 2002 ; Yang et al., 2006 ; Yang et al., 2008).

	Avantages	Inconvénients
Raffinage chimique	<ul style="list-style-type: none"> -Élimine complètement les impuretés avec une teneur en phosphore de 2 à 5 ppm/Kg. - Effet décolorant de la neutralisation par la soude, ce qui facilite les étapes de blanchiment et de désodorisation. - La consommation de la terre décolorante est inférieure à celle de raffinage enzymatique. - La récupération de l'huile acide est inférieure au raffinage enzymatique. 	<ul style="list-style-type: none"> -Produits d'importants volumes de soapstocks. -Les pertes d'huile par entraînement dans les soapstocks, eaux de lavage et dans les terres décolorantes. -Destruction de la vitamine E, essentielles à la prévention de l'oxydation de milieu intérieur. -Le procédé chimique utilise d'importantes quantités de produits chimie agressifs, qui pouvant avoir un impact négatif sur l'environnement. - Consommation importante de l'énergie électrique.
Raffinage enzymatique	<ul style="list-style-type: none"> - Elimination totale des impuretés, avec une présence de 0 à 3 ppm /Kg de phosphore ce qui génère une bonne stabilité de l'huile. -Le dégomme enzymatique ne génère pas des pâtes de neutralisation et permet d'éviter les pertes d'huile liée à la séparation. - Consommation moindre de produits chimiques (H3PO4, NaOH). - Enzyme biodégradable. - Le dégomme enzymatique permet d'éviter la dégradation de la vitamine E, il est donc mieux préservé dans l'huile. - Récupération des quantités d'AGL plus importantes en comparaison au procédé chimique. - diminution de la quantité des eaux usées (pas de lavage) 	<ul style="list-style-type: none"> -Contrôle et ajustement du pH et de la température. -l'utilisation non parfait des enzymes peut achever la démulcination donc on aura un mauvais rendement des huiles finies. - Manque d'information sur les enzymes qui sont généralement importées des pays étrangers. -Plus grande consommation de terre décolorante.

Matériel et méthodes

Dans cette partie seront présentés les différents protocoles et méthodes utilisés pour la réalisation des tests à savoir les tests physico-chimiques, le dosage du phosphore, le raffinage chimique et enzymatique de l'huile de Soja.

1. Caractéristiques de l'huile brute

Notre étude est portée sur la caractérisation physico-chimique d'une huile brute de soja (Tableau.I). En effet, cette dernière présente une teneur importante en phosphatides (145,92ppm) ainsi que d'autres impuretés indésirables responsables du goût et de l'odeur désagréable. Et dans le but d'améliorer la qualité de l'huile consommable, un procédé de raffinage chimique et enzymatique a été réalisé. Les échantillons des huiles utilisées dans notre travail (L'huile brute, l'huile dégommée, l'huile lavée, l'huile décolorée), ont été prélevés à partir de la section de stockage de l'organisme CO.G.B (Fig. 11).

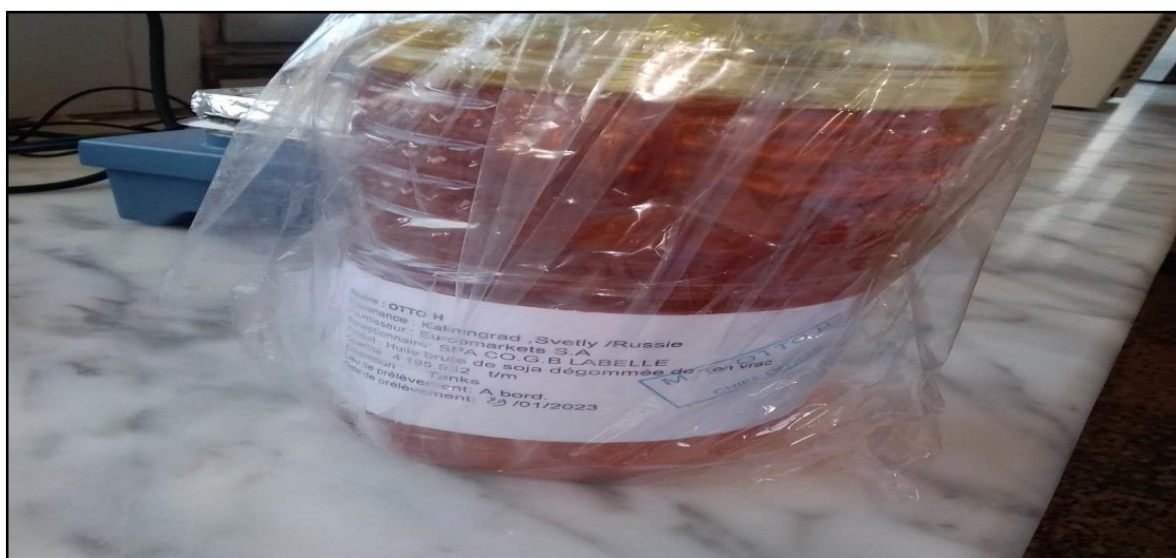


Figure n° 11. Echantillons de l'huile brute de soja fournis par CO.G.B.

2. Analyses effectuées sur l'huile de soja

2.1. Analyses physico-chimiques

Les différentes analyses effectuées sont énumérées dans le tableau VI.

Tableau VI. Analyses physico-chimiques effectuées sur les différents échantillons

Echantillons	Analyses effectuées
L'huile brute	- Acidité - Couleur - Indice de peroxyde - Humidité - Impuretés - Phosphore
L'huile dégommée	- Acidité - Phosphore
L'huile lavée	- Traces de savon - Acidité
L'huile décolorée	- Couleur - Acidité - Phosphore

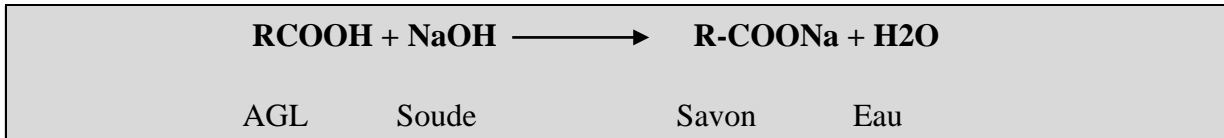
2. 1.1. Analyses chimiques

2.1.1.1. Détermination d'acidité

Elle est déterminée conformément au mode opératoire spécifié par la norme NE 1.2-43-1985. L'indice correspond au nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium ou de sodium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres (acide oléique) présents dans un gramme de corps gras.

- **Principe**

Le principe consiste d'abord à la mise en solution d'une prise d'essai dans un mélange de solvants, puis au titrage des acides gras libres présents, à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium.



- **Expression en acidité**

Les résultats sont exprimés en % en utilisant la formule suivante

$$A(\%) = \frac{V.N.M}{10.m}$$

Où :

M: Masse molaire d'acide adapté pour l'expression utilisée (M=282g/mol pour l'acide oléique) ;

N : Normalité de NaOH 0,1N ;

V : Volume de NaOH nécessaire pour la neutralisation en ml ;

m: Masse de la prise d'essai en gramme.

2.1.1.2.Détermination d'Indice de peroxyde (NE 1.2-50-1985)

L'indice de peroxyde correspond à la quantité de l'oxygène présent dans l'échantillon, il est exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme, oxydant l'iodure de potassium dans les conditions opératoires.

- **Principe**

Le principe consiste à un traitement d'une prise d'essai, en solution dans l'acide acétique et du chloroforme, par une solution d'iodure de potassium puis le titrage de l'iode libéré par une solution titrée de thiosulfate de sodium.

- **Expression des résultats**

Les résultats sont obtenus en utilisant la formule ci-dessous

$$\text{IP} = \left[\frac{N (V1 - V0)}{m} \right] \cdot 1000$$

Où :

V0 : Volume en ml de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour l'essai à blanc.

V1 : Volume en ml de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour la détermination.

N : Normalité de la solution de thiosulfate de sodium utilisée.

m : Masse de la prise d'essai.

2.1.1.3. Détermination des traces du savon (NA 6341-1993)

Les traces du savon représentent la teneur en oléate de sodium, dans l'huile soluble dans l'acétone, exprimée en partie par million (ppm).

- **Principe**

Le principe consiste au titrage volumétrique, par l'acide chlorhydrique, en présence de bleu de bromophénol comme indicateur.

- **Expression des résultats**

Les résultats de détermination des traces du savon sont exprimés en%/m d'oléate de sodium en utilisant la formule ci-dessous.

$$\text{Pourcentage par masse} = 0,304 \frac{T}{M}$$

Où :

T : Volume en ml de l'acide chlorhydrique à 0,01N nécessaire ;

M : Masse en g de la prise d'essai.

2.1.2. Analyses physiques

2.1.2.1. Détermination de la couleur (NE 1.2-364-1989)

- **Principe**

Cette méthode consiste à comparer la couleur de la lumière transmise, à travers une certaine couche de graisse liquide à la couleur de la lumière provenant toujours de la même source, à l'aide des lames colorées standardisées.

La détermination de la couleur jaune et rouge est effectuée par un colorimètre de marque tintomètre Lovibond (Fig. 12).



Figure n° 12. Appareil de mesure colorimétrique « Lovibond ».

- **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés en termes d'un nombre d'unités rouges et jaunes nécessaires à l'obtention de la couleur convenable.

2.1.2.2. Détermination de l'humidité (NE 1.2-47-1985)

L'humidité d'une matière englobe toutes les substances qui s'évaporent par chauffage en entraînant une perte du poids de l'échantillon. Cette dernière est mesurée par une balance et elle est interprétée comme un taux d'humidité.

- **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés en %

$$\text{Humidité(\%)} = \frac{(m1 - m2) \cdot 100}{m1 - m0}$$

Où :

m1: Masse du cristalliseur avec la prise d'essai avant chauffage ;

m2 : Masse de cristalliseur avec la prise d'essai après chauffage ;

m0 : Masse du cristalliseur vide.

Les modes opératoires des analyses physico-chimiques sont illustrés dans l'annexe n°01.

3.Raffinage enzymatique à l'échelle du laboratoire

L'échantillon utilisé est l'huile de soja brute, conservée à température ambiante et à l'abri de la lumière.

3.1.Dégommage et caractérisation enzymatique

L'enzyme utilisée lors de dégommage enzymatique est la Phospholipase A1 commercialisée sous le nom de QUARA par novozyme. Cette dernière a été fournie par l'organisme COGB labelle Bejaïa. (Annexe 3 : Fiche de donnée de l'enzyme : QUARA).

Pour cette analyse, nous avons suivi les étapes suivantes :

Calcul de la quantité et le volume d'enzyme

- Pour 200 g de l'huile brute, la quantité de 0,006 g d'enzyme est nécessaire.
- On n'ajoute pas l'enzyme à son état pur mais sous forme d'une solution diluée à 10% ; dont le volume, calculé par la formule présentée dans l'annexe 04, est de 58,82 µL après la dilution.

□ Les solutions utilisées

- Solution d'acide citrique monohydraté à 50%.
- Solution de la soude caustique à 14%.

• Mode opératoire

Une quantité de 200g d'huile brute de soja est mise dans un ballon qui est soumis à une agitation à 350 tr/min. Puis à un chauffage à $70 \pm 0.1^\circ\text{C}$. Après, 0,21 ml d'acide citrique monohydraté à 50% sont ajoutés et laissés pendant 20 minutes afin d'obtenir une bonne homogénéisation. La température est baissée à $50 \pm 0.1^\circ\text{C}$. La solution de soude caustique à 14% est ajoutée dans le réacteur avec 3 minutes d'agitation. Par la suite, 5 ml d'eau distillée sont ajoutés. Enfin, une quantité d'enzyme diluée à 10% est intégrée. La catalyse est ainsi initiée et dure pendant un temps près-déterminé. A la fin de la réaction, l'agitation est stoppée. Le milieu réactionnel est centrifugé à 4000 tr/min pendant 20 min afin de récupérer la phase légère (huile dégommée) dans des préformes. Toutes les étapes sont illustrées dans la figure ci-dessous.



Figure n° 13. Etapes de dégommage enzymatique à échelle de laboratoire.

3.2.Décoloration

C'est une phase qui consiste à éliminer les pigments colorés (chlorophylles et carotènes) qui sont responsables de la couleur foncée de l'huile brute. Tout en procédant à rajouter 1,56 g de la terre décolorante à 130 g de l'huile dégommée et séchée, par la suite le mélange a été chauffé à 90°C . Enfin, une filtration de mélange a été effectuée (Fig. 14).



Figure n° 14. Décoloration de l'huile lavée et séchée avec la terre décolorante.

4. Dosage du phosphore (AOCS Ca 5a-40 AOCS.1997)

- **Principe et méthode**

Cette méthode détermine le phosphore par calcination de l'échantillon en présence de l'oxyde de zinc, suivie par la mesure spectrophotométrique sous forme de complexe d'acide phospho-molybdique bleu. C'est la méthode la plus sensible qui convient au dosage de phosphore dans les huiles raffinées. Le matériel, les réactifs utilisés, les solutions standards ainsi que la courbe d'étalonnage sont indiqués dans l'annexe n°2.

- **Mode opératoire**

D'abord, dans un creuset (VYCOR), 3,0 g d'huile sont ajoutés à 0,5 g d'oxyde de zinc, le mélange est chauffé sur une plaque chauffante tout en augmentant progressivement la température jusqu'à ce que la masse soit entièrement carbonisée. Ensuite, le creuset est placé dans un four à moufle à une température de 600°C pendant 2 heures, suivi par un refroidissement à température ambiante. Puis, 5 ml d'eau distillée et 5 ml d'HCL concentré sont ajoutés aux cendres. Le mélange est chauffé pendant 5 minutes jusqu'à une ébullition. Pour être enfin filtré dans une fiole jaugée de 100 ml. La solution filtrée est refroidie à température ambiante puis neutralisée avec la solution KOH à 50 % jusqu'à l'apparition d'une légère turbidité, ensuite l'HCL concentré est ajouté goutte à goutte jusqu'à ce que le précipité d'oxyde de zinc soit juste dissous (Fig. 15).

Matériel et méthodes

Un volume de 10 ml de cette solution est transvasé dans une fiole jaugée de 50 ml auxquels 8,0 ml de solution de sulfate d'hydrazine et 2,0 ml de solution de molybdate de sodium sont rajoutés respectivement. Le mélange est chauffé pendant 10 minutes dans un bain marie d'eau bouillante suivi d'un refroidissement jusqu'à 25°C dans un bain marie et d'une dilution (Fig. 15). La lecture des absorbances est réalisée par un spectrophotomètre UV- visible à 650 nm.



Figure n° 15. Etape de dosage du phosphore.

- **Expression des résultats**

Les résultats de dosage du phosphore sont déterminés par la formule suivante

$$\text{phosphore}(\%) = \frac{10(A-B)}{V.W}$$

Où :

A : Teneur en phosphore de l'échantillon en mg ;

B : Teneur en phosphore dans le blanc en mg ;

W : Prise d'essai de l'échantillon en g (3,0-3,2 g) ;

V : Volume de l'échantillon (10 ml de la solution).

Résultats et discussion

Dans cette partie seront présentés les résultats obtenus lors des analyses physico-chimiques, à savoir l'acidité, l'indice de peroxyde, les traces du savon, la couleur, le taux de l'humidité et le taux du phosphore, effectuées sur les différents échantillons de l'huile de soja notamment l'huile brute, l'huile dégommée, l'huile lavée, l'huile décolorée et l'huile désodorisée.

1. Résultats d'analyses physico-chimiques

1.1. Huile brute

Les différents résultats d'analyses physico-chimiques effectuées sur l'huile brute de soja sont représentés dans le tableau VII

Tableau VII. Résultats d'analyse de l'huile brute de soja

Paramètres	Acidité %	Couleur (unité) Rouge / Jaune	Humidité %	Indice de peroxyde (MéqO ₂ /kg)	Phosphatides(ppm)
Résultats	0,70	1,6 / 70	0,13	1,7	145,92
Norme de l'entreprise	2 max	- -	0,2	15 max	200 max

D'après les résultats analytiques obtenus sur l'huile brute de soja (L'acidité, la couleur, le taux de l'humidité, l'indice de peroxyde, les phosphatides) (Tab. VII), on remarque qu'ils sont conformes aux normes de la société CO.G.B Labelle. Montrant ainsi de bonnes performances d'activité d'extraction et de stockage de l'huile. Par ailleurs, on constate que l'huile brute présente un bon état initial, ce qui aidera son raffinage.

L'acidité est évaluée à 0,70 % d'acide oléique libre, elle est due à l'effet de traitement thermique lors de l'étape d'extraction (Motri et al., 2021). D'après Chew et al. (2016), la quantité d'acidité révèle certaines informations sur la qualité de l'huile et son caractère comestible. Une teneur élevée en acides gras libres entraîne un goût et une odeur indésirable dans l'huile végétale (Ghazani et Marangoni, 2013).

Résultats et discussion

Toutefois, l'indice de peroxyde de l'huile brute de soja (1,7Méqo₂/kg) est très faible par rapport à la norme indiquée par l'entreprise (Tab.VII). Ce qui signifie que cette dernière elle n'a pas subi une oxydation très importante lors de stockage (**Karoui et al., 2020**). Selon **Benbouriche et al. (2022)**, l'indice de peroxyde est considéré comme une image de l'état oxydatif de l'huile.

Nous remarquons également une teneur faible en humidité, qui est due aux bonnes conditions de séchage des graines au cours de l'étape de préparation (**Motri et al., 2021**).

Après avoir effectué une comparaison entre nos résultats (Tab.VII) avec ceux des travaux réalisés par **Motri et al. (2021)** sur l'huile de soja, nous avons constaté une différence dans le pourcentage de l'acidité et de l'humidité qui sont respectivement de 0,77% et 0,063 %. De plus, nos résultats sont inférieurs à ceux de l'huile de tournesol indiqués dans le travail de **Pal et al. (2014)**, les auteurs ont trouvé pour l'indice de l'acidité un pourcentage de 1,10 % et un indice de peroxyde de 22,5 Méqo₂/kg.

Par ailleurs, les indices d'acidité et de peroxyde de notre huile sont comparables à ceux trouvés par **Ghazani et Marangoni (2013)**, dans l'huile de Canola brute qui ont montré une acidité comprise entre 0,3 à 1,2 % et un indice de peroxyde qui varie de 0,5 à 3 Méqo₂/kg.

En faisant une autre comparaison avec les résultats obtenus par **Hamaili et Boudjabi (2020)** sur l'huile de soja, nous avons déduit une légère différence où leurs résultats ont indiqué un pourcentage d'acidité de 0,9 % (légèrement supérieur au nôtre) (Tab.VII), alors que leur indice de peroxyde (5,4 Méqo₂/kg) est beaucoup supérieur à celui que nous avons trouvé. Néanmoins, le taux d'humidité dans leur étude est évalué à 0,09 %, un taux inférieur à celui indiqué dans notre travail.

1.2. Huile lavée et séchée

Les résultats des analyses de l'acidité, l'humidité, des traces du savon de l'huile lavée et séchée sont présentés dans le tableau VIII.

Tableau VIII. Résultats d'analyse de l'huile lavée et séchée.

Paramètres	Acidité %	Trace de savon (ppm)	Humidité (%)
Résultats	0,05	8	0,06
Norme de l'entreprise	0,06-0,10	<50	0,08 MAX

D'après les résultats des analyses effectuées sur l'huile lavée et séchée (l'acidité, les traces de savon, l'humidité), nous constatons qu'ils sont conformes aux normes de l'entreprise (Tab. VIII).

Nous avons remarqué que le pourcentage d'acidité diminue d'une valeur de 0,70 % pour l'huile brute (Tab. VII) à une valeur de 0,05 % pour l'huile séchée (Tab. VIII), cette diminution pourrait être due à l'élimination des acides gras libres (AGL) sous forme de savon durant l'étape de la neutralisation qui précède le lavage, tel qu'il a été démontré par **Pal et al. (2014)**. Nous avons constaté également un abaissement d'humidité de 0,13% pour l'huile brute (Tab. VII) à 0,06 % après le séchage (Tab. VIII). De plus, l'échantillon de l'huile lavée a présenté 8 ppm de traces de savon (Tab. VIII). Le dernier résultat concorde avec les conclusions de **Bauer et al. (2010)** selon lesquels, une huile bien lavée, contient moins de 30 ppm du savon, 50ppm au maximum.

Selon **Ghazani et Marangoni (2013)** les acides gras libres doivent être éliminés lors de la neutralisation, car ils jouent un rôle d'un pro-oxydants dans l'huile. La formation du savon est le résultat de leur élimination par la neutralisation avec la soude caustique (**Dumont et Narine, 2008**). Puis, l'élimination des traces du savon qui sont formées lors de la neutralisation se fait grâce à l'étape de lavage (**Pages et al., 2010; Ghazani et Marangoni, 2013**).

Une étape de séchage est nécessaire afin d'éliminer l'humidité présente dans l'huile lavée pour garantir le bon déroulement des étapes ultérieures de raffinage (**Bauer et al., 2010 ; Ghazani et Marangoni, 2013**).

La comparaison de nos résultats avec ceux trouvés dans des études antérieures a révélé que nos résultats, pour le paramètre d'acidité, sont d'abord trop inférieurs à ceux d'**Ortega-García et al. (2005)** qui ont rapporté un pourcentage de 0,456 % dans l'huile lavée et séchée de l'huile de soja, puis légèrement inférieurs à ceux de **Hamaili et Boudjabi(2020)** qui ont exprimé un taux d'acidité de 0,08 % dans l'huile lavée et séchée de l'huile de soja. Pareil pour les traces du savon, le nôtre (8ppm) est inférieur à leur résultat (62 ppm). Par contre, leur résultat pour le taux d'humidité 0,01 % est inférieur à notre résultat (0,06%).

1.3.Huile décolorée

Les résultats d'analyse de l'huile décolorée sont représentés dans le tableau IX.

Tableau IX. Résultats d'analyse de l'huile décolorée.

Paramètres	Acidité %	Couleur (unité) Rouge/Jaune
Résultats	0,06	0,55
Norme de l'entreprise	0,06-0,12	Rouge +Jaune <10

D'après les résultats des analyses effectuées sur l'huile décolorée (l'acidité et la couleur), nous constatons que nos résultats sont tous conformes aux normes de l'entreprise (Tab. IX).

Nous avons remarqué une légère augmentation de l'acidité de 0,05 % dans l'huile lavée séchée (Tab. VIII) à 0,06 % après la décoloration (Tab. IX). Cette augmentation pourrait être expliquée par la conversion des savons résiduels en acides gras libres sous l'effet de la terre décolorante (**Gibon et al., 2007**).

L'estimation de la couleur en utilisant l'appareil lovibond, a révélé un éclaircissement de la couleur foncée en comparaison avec celle de l'huile brute (Tab. VII) qui est d'un ordre de 1,6 à 0,5 pour l'unité rouge et de 70 à 5 pour l'unité jaune après la décoloration (Tab. IX).

La diminution remarquable de la couleur foncée est peut-être due à l'élimination des pigments indésirables (chlorophylles, caroténoïdes) responsables de l'augmentation de cette dernière par l'adsorption de la terre décolorante (**Chew et Ali, 2021**). La terre décolorante améliore la qualité de l'huile et réduit sa couleur foncée à une couleur plus claire en changeant ses unités de couleur de base sans modifier ses propriétés chimiques (**Okwara et Osoka, 2006**).

Notre résultat d'acidité est supérieur à celui indiqué dans l'huile décolorée de soja (0,03 %) analysée par **Hammond et al. (2005)**. Mais il est inférieur au résultat (0,197%) révélé dans le travail de **Sadaoui (2016)** dans l'huile de soja. L'auteur dans le même travail a rapporté des valeurs, pour l'intensité de la couleur, beaucoup supérieures (3,1 pour l'unité rouge et 26 pour l'unité jaune) à celui constaté dans notre travail (Tab. IX).

1.4. Huile désodorisée

Les résultats obtenus après la désodorisation sont mentionnés dans tableau X.

Tableau X. Résultats d'analyse de l'huile désodorisée.

Paramètres	Acidité %	Humidité %	Trace de savon (ppm)	Indice de peroxyde (Méqo ₂ /kg)	Couleur Rouge /Jaune
Résultats	0,05	0	0	0	0 0,5
Norme de l'entreprise	0,02-0,12	/	0	0	Rouge +Jaune <0,5

D'après les résultats analytiques obtenus sur l'huile désodorisée de soja (L'acidité, la couleur, le taux de l'humidité, l'indice de peroxyde). On remarque qu'ils sont tous conformes aux normes de l'entreprise CO.G.B Labelle (Tab. X). Ce qui révèle le bon déroulement des diverses étapes de raffinage. Donc on peut dire que cette huile présente un bon état final, ce qui la rendre prête à la consommation.

Les résultats (Tab. X) indiquent aussi une légère diminution de l'acidité de 0,06 % (Tab.IX) à 0,05 % après désodorisation (Tab. X), cela pourrait être dû à l'élimination des acides gras libres (**Chew et Ali, 2021**).

Nous notons également une diminution remarquable de l'intensité de la couleur de 0,5 à 0 pour l'unité rouge et de 5 à 0, 5 pour l'unité jaune après la désodorisation à cause probablement de l'élimination des pigments colorés (chlorophylle et caroténoïdes) (**Chew et Ali, 2021**).

Après l'étape de désodorisation, l'indice de peroxyde, les traces du savon et l'indice de l'humidité diminuent d'une façon importante. Cela pourrait être dû à l'élimination des produits

d'oxydation volatils. Selon **Mariod et al. (2012)** et **Chew et Ali (2021)**, la désodorisation permet d'éliminer les composés volatiles comme les acides gras libres et les composants odoriférants, ainsi que les produits d'oxydation et la décomposition des pigments colorés, et elle permet d'obtenir une huile raffinée avec une meilleure stabilité oxydative. De plus, **Ghazani et Marangoni (2013)** et **Chew et al. (2017)** ont indiqué que la quantité des acides gras libres de l'huile désodorisée est inférieure à 0,05 % ce qui conduit à la production d'une l'huile comestible sans couleur ni odeur indésirables.

Nos résultats obtenus pour l'indice de l'acidité et celui de peroxyde (Tab. X) sont inférieurs à ceux indiqués dans l'étude de **Pal et al. (2014)** réalisée sur l'huile de tournesol désodorisée (0,24 % ; 7,9 MéqO₂/kg respectivement). En ce qui concerne le résultat de l'humidité, nous avons noté une similarité entre le leur et le nôtre.

Ghazani et Marangoni (2013) ont rapporté, dans l'huile désodorisée de Canola, un indice d'acidité (0,03 %) inférieur à celui de notre travail (Tab. X) et une équivalence dans l'indice de peroxyde. De même, notre indice d'acidité est supérieur à celui détecté par **Hammond et al. (2005)** dans l'huile de soja (0,02 %).

Par ailleurs, l'indice de peroxyde et le pourcentage d'humidité ont subi une diminution progressive de l'état brute à l'état désodorisée, ceux-ci a été aussi constaté par **Hamaili et Boudjabi (2020)** qui ont travaillé sur l'huile de soja.

2. Dégommage enzymatique

Le raffinage de l'huile végétale brute (soja) comporte une étape de dégomme, de neutralisation, de décoloration et de désodorisation (**Yu et al., 2012**). Le dégomme peut être réaliser par plusieurs types, notamment le dégomme chimique et le dégomme enzymatique (**Beig-Mohammedi et al., 2021**).

Le dégomme enzymatique est une méthode innovante qui sert à éliminer les mucilages, afin de réduire leur teneur en composants contenant du phosphore pour produire une huile qui peuvent être physiquement raffinée en utilisant des phospholipases tel que la phospholipase A1 (QUARA) (**Aalrust et al., 1993**; **Dijkstra, 2011**). Cette dernière est utilisée

avec succès dans le dégomme des huiles végétales (Jahani et al.,2008 ; Sheelu et al.,2008 Yang et al., 2008).

2.1.Facteurs influençant le dégomme enzymatique

Afin d'assurer le bon déroulement de dégomme enzymatique, il est nécessaire de prendre en considération un ensemble de paramètres qui peuvent influencer cette étape : tels que le temps, le pH, la température et l'ordre d'addition des enzymes (Dayton et Galhadro, 2008).

Les travaux de Motri et al. (2021) indiquent qu'ils existent plusieurs paramètres qui peuvent influencer la qualité et le rendement de l'huile dégomme, dont on trouve la dose d'enzyme, la dose de NaOH et la vitesse d'agitation. A cet effet, nous avons réglé la vitesse d'agitation à 350 tr/min et ajusté la température et le pH à une valeur optimale à la réaction enzymatique.

2.2.Résultats de la détermination d'acidité de l'huile dégomme (traitement enzymatique à l'échelle de laboratoire)

La première étape, avant de calculer le taux de l'acidité de cette huile, nous avons procédé à déterminer le volume de la soude ajouté pour obtenir le pH qui permet d'avoir les conditions favorables pour une meilleure activité enzymatique.

Nous avons constaté que l'enzyme exerce son activité phospholipasique dans le pH égale à 4,824, qui est obtenu après l'ajout de 0,231ml de NaOH.

Le résultat du taux de l'acidité de l'huile dégomme est représenté dans le tableau XI

Tableau XI. Résultats de mesure de l'acidité de l'huile dégomme

Paramètres	Volume d'enzyme ajoutée (ml)	Acidité %
Brute	/	0,70
dégomme	0,058	0,77

Après traitement enzymatique par l'enzyme QUARA, nous avons noté un pourcentage de l'acidité égale à 0,77% (Tab. XI), ce pourcentage est supérieur à celui de l'huile brute (0,70 %). Cette augmentation pourrait être expliquée par la libération des AGL (acides gras libres) dans le milieu réactionnel, qui est provoquée par l'action de l'enzyme QUARA qui catalyse l'élimination du groupe acyle de la position sn-1 du phospholipide pour former des lyso-phospholipides et des acides gras libres (Dayton et Galhardo, 2008 ;Fu et al., 2008; Yu et al.,2012).Ce qui confirme que la phospholipase A1 été active.

3.Résultats de dosage du phosphore

Le phosphore est parmi les composants qui affectent d'une manière négative la qualité des huiles végétales (Yang et al., 2019), il est donc indispensable de réduire au maximum sa teneur afin d'obtenir un meilleur rendement en l'huile. La détermination du taux de phosphore doit être faite au départ sur l'huile brute, il est essentiel de la faire aussi au cours des différentes étapes de raffinage (Vigneron et al., 2003; Beig-Mohammedi et al., 2021).

3.1.Résultats de dosage du phosphore dans l'huile brute et dans l'huile dégommée (chimique et enzymatique)

Dans ces résultats nous allons présenter la teneur du phosphore dosée dans l'huile brute de soja, ainsi que dans l'huile dégommée chimiquement et l'huile dégommée enzymatiquement. Les résultats du dosage sont représentés dans la figure n°16.

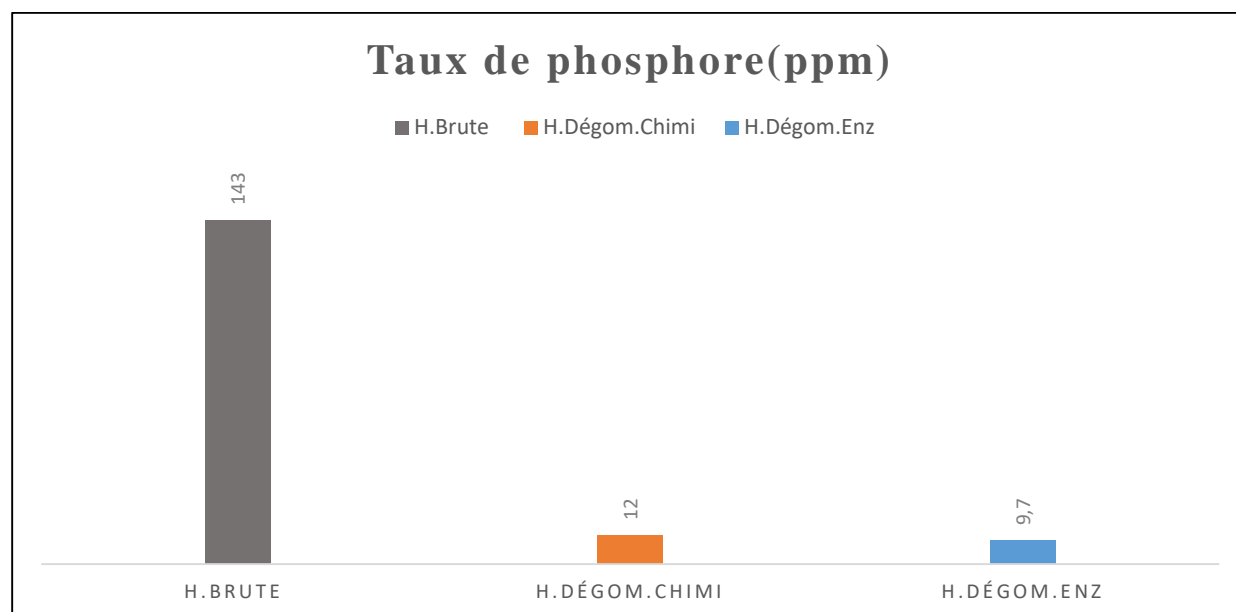


Figure n°16. Evolution du taux de phosphore lors de dégommage chimique et enzymatique de l'huile de soja.

D'après les résultats indiqués dans la (Fig.16), nous constatons que la teneur en phosphore calculée dans notre échantillon d'huile brute est de 143 ppm et que cette valeur est inférieure à 200 ppm qui veut dire que ce résultat est conforme à la norme indiquée par l'entreprise (Tab. VII)

Après le dégommeage la teneur en phosphore enregistrée dans l'huile brute diminue jusqu'à atteindre une teneur de 12 ppm après le traitement chimique et 9,7 ppm après le traitement enzymatique.

La valeur trouvée dans l'huile brute pourrait être expliquée par la bonne qualité de la matière première (graines) et par les bonnes conditions de stockage. Selon **Pagès et Morin (2009)**, la qualité de la matière première et son conditionnement sont essentiels pour pouvoir garantir la qualité de l'huile.

L'abaissement du taux de phosphore après le dégommeage (chimique et enzymatique) est dû à l'élimination d'une quantité importante des PL (phospholipides) et des mucilages. Cela s'explique par la coagulation et la précipitation d'une partie des phosphatides après l'addition d'un acide fort (acide phosphorique ou acide citrique) qui sont ensuite éliminés par centrifugation (**Yang et al., 2008; Zufarov et al., 2008**).

La différence du taux de phosphore entre les deux types de dégommeage (Fig.16) est probablement due à l'effet de la PLA1 (phospholipase A1) utilisée dans le dégommeage enzymatique. Cela s'explique par l'hydrolyse des liaisons esters des phospholipides en lyso-phospholipides solubles, ce qui a permis de réduire le taux du phosphore à moins de 10 ppm (**Yang et al. 2008**). Selon **Yu et al. (2012)**, le dégommeage chimique (acide) permet de réduire le taux du phosphore à moins de 10 ppm, tandis que le dégommeage enzymatique permet de le réduire à moins de 5 ppm. Le dégommeage enzymatique de l'huile végétale était beaucoup plus efficace que les méthodes traditionnelles (**Zhan et al., 2013**).

Nos résultats de dosage du phosphore dans l'huile brute et dans l'huile dégommée chimiquement (Fig.16) sont trop inférieurs à ceux obtenus par **Hammond et al. (2005)** sur l'huile de soja, que ce soit dans l'huile brute (510 ppm) ou dans l'huile après dégommeage (120 ppm). Ils sont aussi inférieurs à ceux de **Beig-Mohammadi et al. (2021)** qui ont trouvé la teneur de 168,5 ppm dans l'huile brute. La même constatation est faite lors de notre comparaison avec les résultats de **Zufarov et al. (2008)** qui ont déduit que l'huile brute de colza

Résultats et discussion

contient 156,4 ppm de phosphore, mais leur résultat pour l'huile brut de tournesol (95,7 ppm) est inférieur à celui que nous avons trouvé pour l'huile de Soja (Fig.16). Les auteurs des trois comparaisons ont constaté la diminution de la teneur du phosphore après les opérations de dégommeages.

Dans une autre comparaison, nos résultats sont supérieurs à ceux observés dans les études de **Rohdenburg et al. (1993)** (100 ppm) et de **Yu et al. (2012)**, (142,2 ppm) sur l'huile de soja brute ; la première est dégommée chimiquement et la deuxième est dégommée enzymatiquement.

De plus, notre résultat est inférieur au résultat de l'huile brute de soja rapporté par **Yang et al. (2008)** (121,5 ppm), par contre la teneur du phosphore dans notre huile dégommée (9,7 ppm) anzymatiquement, à l'échelle du laboratoire, est inférieur à celle trouvée par les auteurs (61,2 ppm). Notant que ces derniers ont réalisé le dégommeage enzymatique à l'échelle industrielle.

Les résultats des travaux de **Yang et al. (2006)** sur l'huile de colza ont révélé une teneur en phosphore de (212,4 ppm) dans l'huile qui est nettement supérieure à la nôtre (143 ppm), par contre la teneur en phosphore dans l'huile dégommée enzymatiquement (<10 ppm) est similaire à notre résultat (9,7 ppm).

Selon **Ghazani et Marangoni (2013)**, la démucilagination (dégommeage) chimique de l'huile de colza réduit le taux du phosphore à moins de 25-30 ppm, contrairement au dégommeage enzymatique qui permet de réduire le taux du phosphore à environ 7 ppm (**Chuyun et al., 2007**). Néanmoins, l'élimination du phosphore est toujours incomplète dans le dégommeage, Cette élimination se poursuit au cours des étapes ultérieures de raffinage dont la teneur en phosphore résiduel dans l'huile dégommée peut être réduite par un processus de raffinage physique (décoloration, désodorisation) (**Dijkstra 2011 ; Yu et al., 2012**).

3.2. Résultats de dosage du phosphore de l'huile décolorée

Dans ces résultats nous allons présenter la teneur du phosphore dosée dans l'huile décolorée par les deux procédés (chimique et enzymatique). Les résultats du dosage sont présentés dans la figure n°17.

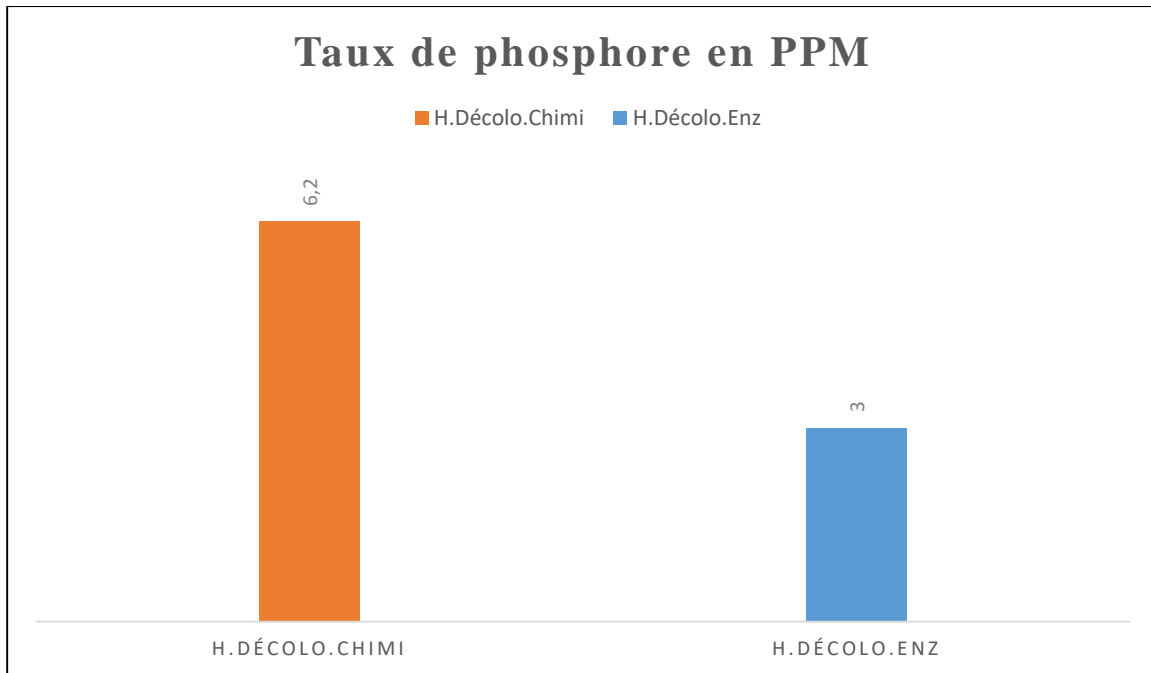


Figure n° 17. Evolution du taux de phosphore dans l'huile décolorée et désodorisée de soja (chimique et enzymatique).

Les résultats présentés dans la figure, au-dessus, indiquent une teneur en phosphore de 6,2 ppm après la décoloration de l'huile dégommée chimiquement et une teneur de 3 ppm après la décoloration de l'huile dégommée enzymatiquement. Cette diminution pourrait être due à l'effet de la terre décolorante (**Chew et Ali, 2021**).

De plus, les histogrammes de la figure n° 17 montrent aussi que la teneur en phosphore de l'huile décolorée, par le procédé enzymatique, est inférieure à celle de l'huile décolorée par le procédé chimique. Cette différence en quantité du phosphore est due à la consommation élevée de la terre décolorante lors de procédé de raffinage enzymatique, ceci est confirmé par **Yang et al. (2006)**. Ainsi selon **Bauer (2010)**, la décoloration vise à éliminer les PL (phospholipides) résiduels par l'intervention d'un agent décolorant (la terre décolorante).

Résultats et discussion

L'élimination des phospholipides est indispensable avant la désodorisation, car leur présence peut engendrer une couleur noire et un goût indésirable de l'huile finie (**Dayton et Galhadro, 2014**). Selon **Yang et al. (2019)**, les phospholipides sont des substances qui effectuent négativement les huiles végétales lors de la désodorisation de l'huile.

Notre résultat de dosage du phosphore dans l'huile décolorée traitée chimiquement (Fig.17) est supérieur à celui obtenu par **Hammond et al. (2005)** qui ont quantifié 01 ppm de phosphore dans l'huile décolorée.

Toutefois, notre résultat pour la quantité du phosphore trouvé dans le traitement enzymatique de l'huile décolorée (Fig.17) est similaire à celui détecté par **Yang et al. (2008)** dans l'huile de soja décolorée enzymatiquement.

conclusion

Notre travail a été réalisé au niveau du complexe « CO.G.B Labelle » dans le but de comparer la teneur en phosphore de l'huile de soja dans les deux procédés de raffinage enzymatique et chimique.

L'identification des paramètres physico-chimiques est indispensable pour indiquer la présence des contaminants dans l'huile avant et au cours du raffinage. Les résultats obtenus ont indiqué la valeur de 0 (MégO₂/kg) pour l'indice de peroxyde et la valeur de 0,05 % pour l'indice de l'acidité après le raffinage, ce qui reflète la bonne qualité de l'huile analysée qui présente un bon état final.

Le dosage du phosphore de l'huile de soja, dans les deux procédés de raffinage chimique et enzymatique dans tous les échantillons (l'huile brute, dégommée, décolorée), a montré l'efficacité des deux procédés dans l'élimination du phosphore : de la teneur 143 ppm à une teneur de 6,2 ppm après le raffinage chimique et à une teneur de 3 ppm après le raffinage enzymatique.

Les résultats obtenus lors de la comparaison entre les deux types de raffinage ont indiqué que le dégommage enzymatique est probablement le meilleur procédé disponible aujourd'hui pour réduire la teneur en phosphore des huiles végétales à moins de 10 ppm (9,7 ppm).

Enfin, les résultats ont montré que l'étape de la décoloration dans les deux procédés de raffinage a participé à l'élimination du phosphore résiduel à des teneurs qui peuvent même s'annuler dans les bonnes conditions.

Notre stage effectué au sein du complexe CO.G.B Labelle nous a permis d'acquérir des connaissances dans le domaine des corps gras, leurs technologies de production et de transformation à l'échelle industrielle, ainsi que les traitements obligatoires que subissent les huiles avant leur consommation.

En termes de perspectives, il serait souhaitable pour les futures contributions sur le raffinage enzymatique au niveau de laboratoire de :

- Utiliser un autre type d'agitation, tel qu'un agitateur à haut cisaillement, afin de garantir une bonne homogénéisation lors du dégommage.
- Utiliser des équipements qui permettent d'obtenir la concentration en phosphore en quelques minutes tel que la spectrométrie d'émission à plasma ;

- Faire une comparaison sur une large gamme des huiles végétales (soja, colza, tournesol, etc.)
- De point de vue respect de l'environnement, il est important de réduire l'utilisation du raffinage chimique (basé essentiellement sur l'usage des produits chimiques).

Références
Bibliographiques

- Aalrust E, Beyer W, Ottofrickestein H, Penk G, Plainer D, Reiner D.** Enzymatic method for reducing the amount of phosphorous-containing components in vegetable and animal oils. EP Patent 1992 ; 0,513,709.
- Aalrust E, Beyer W, Ottofrickestein H, Penk G, Plainer H, Reiner R.** Enzymatic treatment of edible oils. US patent 5,264,367 assigned to Röhm GmbH and metallegesellschaft AG 1993.
- AOCS. (1997).** Champaign. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society, Ca. 12-55.
- Bauer WJ, Badoud R, Lölinger J.** *Principes de chimie des constituants et de technologie des procédés.* Romande : Etournaud A,2010 : 736.
- Beig-Mohammadi Z, Hamidi-Esfahani Z, Sahari MA, Khosravi-Darani K.** Dégommage enzymatique de l'huile de soja par la phospholipase A1 immobilisée sur une membrane nanofibreuse de chitosane modifiée à la surface du plasma. L'Iran. J. Chem. Chim. Ing 2021 ; 40(5) : 1421-1430.
- Benbouabdellah S et Benkhouja N.** Effet des différentes concentrations d'acide phosphorique sur la démucilage de l'huile de colza. Thèse d'ingénieur : Bejaïa, UAMB, (2001).
- Benbouriche A, Haddadi-Guemghar H, Bachir-bey M, Boulekbache-Makhlouf L, Hadjal S, Kouadri L, Mehidi-Terki D, Hamitri M, Madani K.** Improvement of thermo-resistance and quality of soybean oil by blending with cold-pressed oils using simplex lattice mixture design. OCL 2022 ; 29 : 33.
- Bonneau S.** Interaction dynamics of tetrapyrroles with membranes and lipoproteins : consequences on cellular localisation. Biological Physics. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2003. French.
- Bora L.** Caractérisation de la nouvelle phospholipase C de *Bacillus licheniformis* MTCC 7445 et son application au dégomme des huiles végétales. Appl. Biochimie. Microbiol 2013 ; 49 : 555-561.
- Chevalier D, Debeuf C, Joubrel G, Kocken M, Planchenault N.** Les aliments au soja : consommation en France, qualités nutritionnelles et données scientifiques récentes sur la santé. OCL 2016 ; 23 : 15-2.
- Christie WW.** Lipids Analysis, Oily Press, Dundee 2003.
- Chew SC, Ali MA.** Recent advances in ultrasound technology applications of vegetable oil refining. Trends Food Sci Technol 2021 ; 116 : 468–479.
- Chew SC, Tan CP, Nyam KL.** Optimisation des paramètres de dégomme dans le processus de raffinage chimique pour réduire la teneur en phosphore dans l'huile de graines de kénaf. Technologie de séparation et de purification 2017 ; 188 : 379–385.
- Chew SC, Tan CP, Nyam KL.** Optimization of neutralization parameters in chemical refining of kenaf seed oil by response surface methodolog. Cultures et produits industriels 2016 ; 95 : 742–750.

- Chuyun W, Fenghon H, Fujian X, Wenlin L.** Effets du traitement enzymatique sur le dégommage et la qualité de l'huile de colza. *Alimentation Sci Chine* 2007 ; 28: 194–198.
- Cmolík J, Pokorný P.** Raffinage physique des huiles alimentaires. *JAOCS* 1995 ; 27 : 1193–1196.
- Dayton CLG, Galhardo F.** Enzymatic degumming utilizing a mixture of PLA and PLC (51) int. Cl. Phospholipases. Demande de brevet américain US 2008/0182322 publiée en juillet 2008.
- De Kock J, De Greyt W, Gibon V, Kellens M.** Développements récents en matières de raffinage et de modifications : Élimination des contaminants dans les huiles alimentaires et réduction du taux d'acides gras trans. *OCL* 2006 ; 12 : 378–384.
- Devillers PH, Thébault J, Mathellier B, Jadeau L, Labaump, Joly X, Bosque F, Badey I et Jolibert F.** Huiles végétales, guide d'aide à l'application des Meilleures Technologies Disponibles (MTD). Institut des corps gras (ITERG) 2010 : 73. Consulté sur : http://iterg.com/IMG/pdf/guide_mtd_iterg_2.pdf.
- Dijkstra AJ.** Dégommage enzymatique. *Eur J Lipid Sci Techno* 2010 ; 112 :1178–1189.
- Dijkstra AJ.** Enzymatic degumming. *Technologie des lipides* 2011 ; 23 (2) : 36-38.
- Dubois, Sophie.** « Composition et transfert trophique de la matière organique dans le Bassin d'aracachon. » Thèse de doctorat, université de BORDEAUX 1,2012.
- Dumont MJ, Narine SS.** Characterization of soapstock and deodorizer distillates of vegetable oils using gas chromatography. *Technologie des lipides* 2008 ; 20 : 136–138.
- Evrard J, Pagès-Xatart-Pares X, Argenson C, Morin O.** Procédés d'obtention et compositions nutritionnelles des huiles de tournesol, olive et colza. *Cah. Nutr. Diét* 2007. 42: 13–23.
- Farhoosh R, Einafshar S, Sharayei P.** L'effet des étapes de raffinage commercial sur les mesures de rancissement des huiles de soja et de canola. *Chimie alimentaire* 2009 ; 115 : 933–938.
- Fine F, Abert Vian M, Fabiano Tixier AS, Carre P, Pages X, Chemat.** Les agrosolvants pour l'extraction des huiles végétales issues de graines oléagineuses. *OCL* 2013 ; 20:62.
- Frederic F, Vian MA, Tixier ASF, Carre P, Pages X, Chemat F.** Les agro-solvants pour l'extraction des huiles végétales issues de graines oléagineuses. *OCL* 2013 ;20(5) : A502.
- Fu J, Huang H, Meng K, Yuan T, Yao B, Shi Y, Ouyang P.** A novel cold-adapted phospholipase A1 from *Serratia* sp. xjF1: Gene cloning, expression and characterization. *Technologie enzymatique et microbienne* 2008 ; 42 : 187–194.
- Gay H.** La culture et les usages du soja. *Revue de botanique appliquée et d'agriculture cloniale* 1935 ; 15 (165):309-324.
- Ghazani SM, Marangoni AG.** Minor components in canola oil and effects of refining on these constituents: A review. *J Am Oil Chem Soc* 2013 ; 90 : 923–932.

- Gibon V, Greyt WD, Kellens M.** Palm oil refining. *Eur J Lipid Sci Technol* 2007 ; 109 : 315–335.
- Hamaili I, Boudjabi R.** Contrôle qualité de deux huiles alimentaires tournesol et soja au cours du raffinage au sein de l'industrie CEVITAL. Constantine : Université Frères Mentouri Constantine 1 ; 2020.
- Hammond EG, Johnson LA, Su C, Wang T, White GP.** Soybean Oil, John Wiley & Sons Inc. Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Sixth Edition 2005; 6: 577- 653.
- Jahani M, Alizadeh M, Pirozifard M, Qudsevali A.** Optimisation du processus de dégommage enzymatique pour l'huile de son de riz en utilisant la méthodologie de surface de réponse. *LWT Food Sci Technol* 2008 ; 41:1892– 1898.
- Jamil, S., Dufour, J. -P. G. et Deffense, E. M. J.** «Method of degumming a fatty substance and fatty body so obtained» 1998: 1-7.
- Jamoussi B, Jablaoui C, Hajri AK, Chakroun R, Al-mur B, Allaf K.** Deodorization process of vegetal soybean oil using Thermomechanical Multi-Flash Autovaporization (MFA). *LWT - Food Science and Technology* 2022 ; 167 : 113823.
- Jiang X, Chang M, Wang X, Jin Q, Wang X.** L'effet des ultrasons sur le processus de dégommage enzymatique de l'huile de colza par l'utilisation de la phospholipase A1, *Ultrason. Sonochem* 2014 ; 21 : 142–148.
- Karleskind A et Denise J.** Manuel des corps gras (vol 2). Paris, France : Tec et doc – Lavoisier, 1992 :1500.
- Karoui IJ, Ayari J, Ghazouani N, Abderrabba M.** Physicochemical and biochemical characterizations of some Tunisian seed oils. *OCL* 2020 ; 27 :29.
- Kim I, Choe E.** Effets du blanchiment sur les propriétés de l'huile de sésame grillé. *J Alimentaire Sci* 2005 ;70(1) : 48–52.
- Lecerf JM.**Vegetable oils: Particularities and usefulness. Elsevier Masson SAS 2011; 5 :262-257.
- Li W, Ma WJ, Qi BK, Rokayya S, Li D, Wang J, Feng HX, Sui XN, Jiang LZ.** Mélange d'huile de soja avec des huiles végétales sélectionnées : impact sur la stabilité oxydative et l'activité de piégeage des radicaux. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014 ;15(6) : 2583–2589.
- Liu Y, Mo R, Zhong D, Shen D, Ni Z, Tang F.** Le sort des pesticides organophosphorés lors de la production d'huile de camélia. *J Food Sci* 2015 ; 80(8):1926–1932.
- Mariod A, Matthaus B, Eichner K, Hussien IH.** Effets de la désodorisation sur la qualité et la stabilité de trois huiles soudanaises non conventionnelles. *GIDA* 2012 ; 37(4) :189–196.
- Morin O, Pagès- Xatart-Parès X.** Huiles et corps gras végétaux : ressources fonctionnelles et intérêt nutritionnel. *OCL* 2012 ; 19(2) : 63-75.
- Motri S, Hsan ST, Rahali S, Grayaa S.** Etude comparative des procédés de dégommage (à l'eau et enzymatique) de l'huile de soja. *IJARTech* 2021 ; 1737-7463.

- Munch EW.** Enzymatic degumming process for oils from soya, rape and sun. Lipro consulting 2004 : 1- 47.
- NE 1.2-364-1989 :** normes d'entreprise pour la détermination de la couleur.
- NE 1.2-43-1985 :** normes d'entreprise pour la détermination de l'acidité.
- NE 1.2-50-1985 :** normes d'entreprise pour la détermination de l'indice de peroxyde.
- Novozymes,** Lecitase ultra, oil and fats/2002-005894-03, Novozymes, AS, 2002.
- Okwara CA, Osoka EC.** Activation caustique des argiles locales pour le blanchiment de l'huile de palme. J. Eng. Appl. Sci 2006 ; 1 :526–529.
- Ortega-García J, Medina-Juárez LA, Gámez-Meza N, Noriega-Rodriguez JA.** Optimisation of Bleaching Conditions for Soybean Oil Using Response Surface Methodology. Food Sci Tech Int 2005 ; 11(6) :443–449.
- Pages X, Morin O, Birot C, Gaud M, Fazeuilh S, Gouband M.** Raffinage des huiles et des corps gras et élimination des contaminants. OCL 2010 ; 17 (2) : 86-99.
- Pages X, Morin O.** Industries des corps gras. In : De Reynal B, Multon JL (Eds), Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. Paris, Lavoisier, 2009.
- Pal US, Patra RK, Sahoo NR, Bakhara CK, Panda MK.** Effect of refining on quality and composition of sunflower oil. Journal of Food Science & Technology 2014 ; 52(7) :4613-4618.
- Pryde.** Composition of soybean oil In: S. R Erickson, E.H.Pryde, O.LBrekke, T.L.Mounts, R.A.Falb, (Ed). Handbook of oil processing and Utilization Peoria: American oil chemists' society, champain, IL, 1980; 13-31.
- Régis J, Joffre F, Fine F.** Impact de la trituration et du raffinage sur la teneur en micronutriments des huiles végétales de colza, soja et tournesol. OCL 2016 ; 23(3): D302.
- Rohdenburg HL, Csernitzky K, Chikany B, Peredi J, Borodi A, Ruzics AF.** Degumming Process for plant oils. Brevet américain 5 239 096 délivré en août 1993.
- Sadaoui K.** Optimisation Des Paramètres de La Décoloration Des Huiles Végétales Soja Et Tournesol. Bejaia : université A.Mira ; 2016.
- Sheelu G, Kavitha G, Fadnavis N.** Immobilisation efficace de la lécitase dans un hydrogel de gélatine et dégommage de l'huile de son de riz à l'aide d'un réacteur à panier à épingles. J Am Oil Chem Soc 2008 ; 85: 739–748.
- Thakkar A, Parikh J.** Étude de la durée de conservation des mélanges d'huile de soja et de maïs dans des proportions variables lors du stockage à température ambiante. Int J Emerg Technol 2014 ; 5(1) : 22–27.
- Vigneron P, Lesieur R, Branche C.** Attentes des industriels en matière d'analyse des oléagineux et des corps gras. Oléagineux, Corps Gras, Lipides 2003 ;10 : 242-7.

- Vorin V, Mourot J, Weill P, Robin G, Peiniau P, Mounier A.** Effet de l'apport d'acides gras oméga 3 dans l'alimentation du porc sur les performances de croissance et la qualité de la viande. Journées Recherche Porcine 2003 ; 35 : 251-256.
- Whoriskey P.** (2009). Le soja ou Soya : aliment-santé durable. Consulté le 10 mai 2014, disponible sur [http://www.vdsciences.com/medias/encrypted/image/Soya Glycine](http://www.vdsciences.com/medias/encrypted/image/Soya_Glycine).
- Yang B, Wang YH, Yang JG.** Optimization of enzymatic degumming process for rapeseed oil. JAOCS 2006 ; 83 : 653–658.
- Yang B, Zhou R, Yang JG, Wang YH, Wang WF.** Insight into the enzymatic degumming process of soybean oil. J Am Oil Chem Soc 2008 ; 85 : 421–425.
- Yang P, Wu Y, Jiang S, Zheng Z, Hou Z, Mu D, Xiao W, Jiang S, Yang YH.** Effective Expression of the *Serratia marcescens* Phospholipase A1 Gene in *Escherichia coli* BL21(DE3), Enzyme Characterization, and Crude Rapeseed Oil Degumming via a Free Enzyme Approach. Bioeng Biotechnol 2019 ; 7 :272.
- Yu D, Jiang L, Li Z, Shi J, Xue J, Kakuda Y.** Immobilisation de la phospholipase A1 et son application dans le dégomme de l'huile de soja. J Am Oil Chem Soc 2012 ; 89 : 649–656.
- Zhan JF, Jiang ST, Pan LJ.** Immobilization of phospholipase A1 using a polyvinyl alcohol-alginate matrix and evaluation of the effects of immobilization. Journal brésilien de génie chimique 2013 ; 30 (4) :721 – 728.
- Zufarov O, Schmidt S, Sekretar S.** Degumming of rapeseed and sunflower oils. Acta Chimica Slovaca 2008 ; 1(1) :321–328.

Annexes

Annexe 01. Modes opératoires

2. 2.1. Analyses chimiques

2.2.1.1. Détermination d'acidité

- **Mode opératoire**

D'abord, un mélange de 10 g d'huile à analyser et 75 ml d'alcool neutralisé (éthanol + quelques gouttes de phénolphaléine et titrer avec NaOH jusqu'à l'apparition d'une couleur rose pâle) est préparé dans un bécher. Ensuite, le mélange est chauffé jusqu'à homogénéisation puis titré en agitant avec une solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 mol /L jusqu'au virage de l'indication.

2.2.1.2. Détermination d'Indice de peroxyde (NE 1.2-50-1985)

- **Mode opératoire**

Pesage de 02 g d'huile dans un ballon, et l'ajout de 10 ml de chloroforme et 15 ml d'acide acétique, puis 01 ml de solution d'iodure de potassium sont rajoutés après agitation du mélange. Après 05 minutes d'incubation à l'abri de la lumière (à une température comprise entre 15 et 25 °C) 75 ml d'eau distillée et quelques gouttes d'amidon comme indicateur sont rajoutés suivi du titrage. L'iode est libéré avec la solution de thiosulfate de sodium (0,002 N).

2.2.1.3. Détermination des traces du savon (NA 6341-1993)

- **Mode opératoire**

40 g de l'huile sont mélangé avec 01 ml d'eau dans un tube à essai. Le mélange est chauffé au bain de vapeur avec un secouage énergiquement. Ensuite, 50 ml d'acétone aqueuse neutralisée sont ajoutés suivi par un deuxième chauffage au bain de vapeur (secouage soigneusement). Le contenu est laissé reposer jusqu'à ce qu'il se sépare en deux couches. La présence du savon est indiquée par la coloration verte qui vire vers le bleu de la couche supérieure. L'opération se termine par l'ajoute de l'acide chlorhydrique à 0,01N, jusqu'à répartition de la couleur jaune.

2.2.2. Analyses physiques

2.1.2.1. Détermination de la couleur (NE 1.2-364-1989)

- **Mode opératoire**

Après le triple rinçage de la cellule en verre, de cinq pouces, avec l'huile à analyser, la cellule est remplie par ce dernier. Ensuite elle est placée dans l'appareil de mesure.

2.1.2.2. Détermination de l'humidité (NE 1.2-47-1985)

- **Mode opératoire**

Pesage de cristalliseur vide séché, 2 à 3 g de l'échantillon sont ajoutés par la suite, le maintenir pendant 1h dans une étuve à $105 \pm 2^\circ\text{C}$, puis refroidir dans un dessiccateur enfin pesage de la prise d'essai.

Annexe 02

Matériels

1. Creusets Vycor, capables de résister à une température de four à moufle d'au moins 600°C .
2. Verre de montre -75 mm de diamètre.
3. Plaque chauffante électrique avec commande par thermostat
4. Four à moufle avec pyromètre et commande appropriées pour maintenir une température de 550 à 600°C .
5. Dessiccateur.
6. Entonnoir en verre, tige courte, diamètre 50 mm
7. Papier filtre sans cendre, diamètre 90 mm
8. Pissette 1Litre à utiliser pour l'eau distillée chaude.
9. Fioles jaugées de 50, 100, 250 et 500 ml, avec bouchons en verre.
10. Pipettes de transfert de 2, 5, 10 et 25 ml
11. Spectrophotomètre répondant aux exigences de la méthode officielle capable de mesurer l'absorbance à 650 nm avec une répétabilité de 0,5 %

12. Cuvettes à utiliser dans le visible région de spectre.

Réactifs

- Acide chlorhydrique (HCL) concentré, sp gr 1,19.
- Oxyde de zinc de qualité commerciale ou de qualité réactif.
- Hydroxyde de potassium (KOH) de qualité réactif.
- Acide sulfurique (H₂SO₄) concentré.
- Molybdate de sodium de qualité réactif.
- Sulfate d'hydrazine.
- Phosphate monopotassique de qualité réactif, séché à 101°C pendant 2 heures avant utilisation

➤Préparation des solutions

☐Molybdate de sodium

Ajouter 140 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) à 300 ml d'eau distillée, refroidir la solution à température ambiante, puis ajouter 12,5 g de molybdate de sodium diluer à 500 ml avec l'eau distillée, bien mélanger et laisser la solution reposer au moins 24 heures avant utilisation.

☐Sulfate d'hydrazine

Dissoudre 0,150 g de sulfate d'hydrazine dans 1 litre d'eau distillée pour obtenir une solution de 0,015 %.

☐Hydroxyde de potassium (50 %)

Dissoudre 50 g de KOH dans 50 ml d'eau distillée, refroidir la solution.

➤Préparations des solutions standards

□Solution mère standard

Dissoudre 1,0967 g de « dihydrogénophosphate de potassium » KH_2PO_4 , séché à 101°C pendant 2 heures, dans l'eau distillée puis, diluer à 250 ml dans une fiole jaugée. Cette solution contient 1 mg de phosphore par ml.

□Solution de travail standard

Pipeter 5 ml de la solution mère standard dans une fiole jaugée de 500 ml puis diluer au volume avec l'eau distillée. Cette solution contient 0,01 mg phosphore par ml.

►Préparation de la courbe d'étalonnage

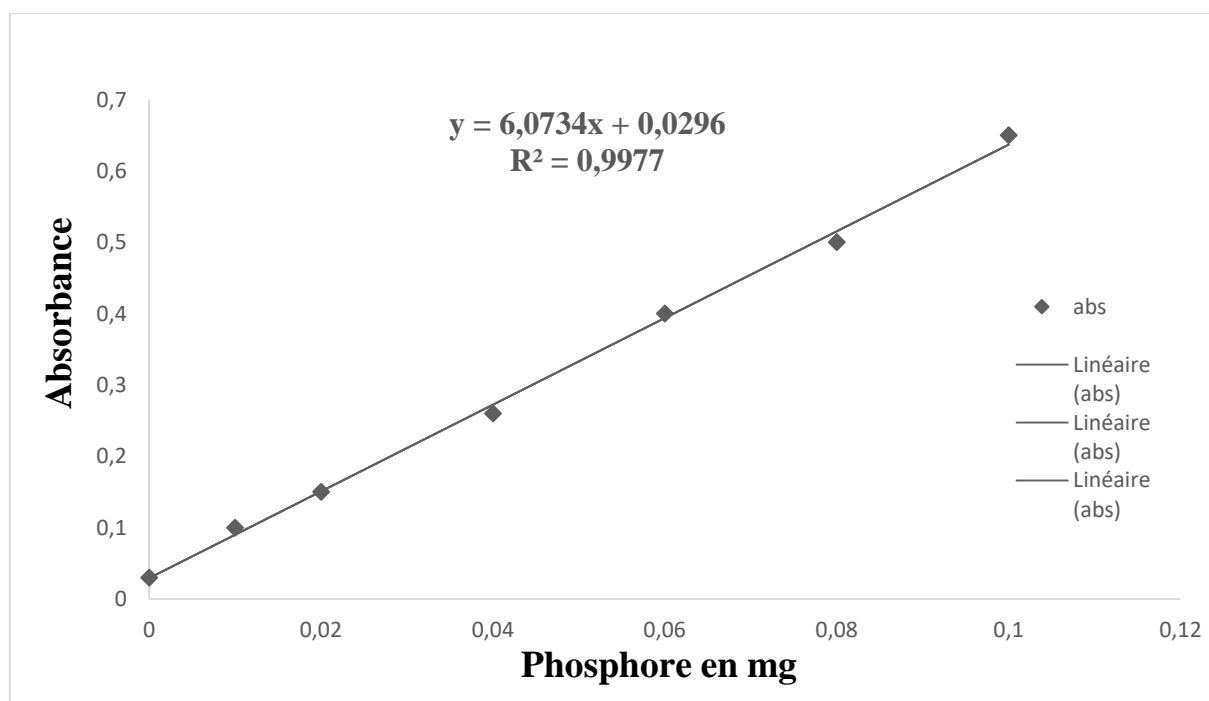
Pour le dosage du phosphore il est nécessaire de tracer une courbe d'étalonnage du phosphore tel que décrit ci-dessous :

- Pipeter 0,0 – 1,0 – 2,0 – 4,0 – 6,0 – 8,0 et 10 ml à partir de la solution standard de travail dans une fiole de 50 ml.
- Chaque échantillon sera dilué avec 10 ml d'eau distillée.
- Addition de 8 ml de sulfate d'hydrazine et 2 ml de la solution de Molybdate de sodium.
- L'absorbance de chaque échantillon a été déterminée à l'aide d'un Spectrophotomètre UV- Visible à 650 nm, La teneur en phosphore sera respectivement de :

0,0-0,01-0,02-0,04-0,06- 0,08-0,1 mg. Puis on trace la courbe d'absorbance en fonction de la concentration du phosphore.



Figure. Préparation de la solution du travail standard



Courbe d'étalonnage de dosage de phosphore.

Annexe 03.Fiche de donnée de l'enzyme : QUARA.

Product Data Sheet
Valid from 2017-08-24

1 of 2

Quara® LowP

In this product the key enzyme activity is provided by phospholipase that hydrolyzes esterbond in 1-position of phospholipids

PRODUCT CHARACTERISTICS/PROPERTIES

Component name	Phospholipase A1
Activity	75 PLA-L/g
Color	Colorless to yellow
Physical form	Liquid
Approximate density (g/ml)	1.17

Color can vary from batch to batch. Color intensity is not an indication of enzyme activity.

PRODUCT SPECIFICATION

	Lower Limit	Upper Limit	Unit
Phospholipase unit PLA-L	75		/g
Total viable count	-	10000	/g
Coliform bacteria	-	30	/g
E.coli	Not Detected		/25 g
Salmonella	Not Detected		/25 g
Heavy metals		Max: 30	mg/kg
Lead		Max 5	mg/kg
Arsenic		Max 3	mg/kg
Cadmium		Max 0.5	mg/kg
Mercury		Max 0.5	mg/kg

The enzyme analytical method is available from the Customer Center or sales representative.

COMPOSITION

Preservatives	Potassium sorbate Sodium benzoate
Stabilizers	Sorbitol Glycerol

ALLERGEN

Allergen	Substance contained ¹	Allergen	Substance contained ¹
Celery	no	Molluscs	no
Cereals containing gluten ^{2,4}	no	Mustard	no
Crustaceans	no	Nuts ³	no
Egg	no	Peanuts	no
Fish	no	Sesame	no
Lupin	no	Soy	no
Milk (including lactose)	no	Sulphur dioxide/sulphites, more than 10 mg per kg or l	no

¹Definition of substances according to EU Regulation 1169/2011, as amended. List covers allergens mentioned in 21 USC 301 (US) and GB 7718-2011 (China).

²i.e. wheat, rye, barley, oats, spelt, kamut

³i.e. almond, hazelnut, walnut, cashew, pecan nut, Brazil nut, pistachio nut, macadamia nut and Queensland nut


⁴ If No: Glutenfree i.e. < 20ppm (EU Regulation 828/2014)

GM STATUS

This product is not a GMO.

The enzyme product is manufactured by fermentation of a microorganism that is not present in the final product. The production organism is improved by means of modern biotechnology.

Rethink Tomorrow

novozymes 

Product Data Sheet

Valid from 2017-08-24

2 of 2

STORAGE CONDITION

Recommended storage: 0-25 °C (32-77 °F)

Packaging must be kept intact, dry, and away from sunlight. Please follow the recommendations and use the product before the best before date to avoid the need for a higher dosage.

Best before: You will find the best before date in the certificate of analysis or on the product label.

The product gives optimal performance if stored at 0–10 °C/32–50 °F and used prior to the best-before date. If stored at max. 25 °C/77 °F, the product should be used within 3 months after delivery.

Novozymes guarantees delivery at least 3 months prior to the best-before date.

SAFETY AND HANDLING PRECAUTIONS

Enzymes are proteins. Inhalation of dust or aerosols may induce sensitization and may cause allergic reactions in sensitized individuals. Some enzymes may irritate the skin, eyes, and mucous membranes upon prolonged contact. See the MSDS or Safety Manual for further information regarding safe handling of the product and spills.

COMPLIANCE

The product complies with the recommended purity specifications for food-grade enzymes given by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemical Codex (FCC).

Kosher and Halal certificates are available from the Customer Center or sales representative.

FOOD SAFETY

Novozymes has carried out a hazard analysis and prepared an HACCP plan describing the critical control points (CCPs). The HACCP plan is supported by a comprehensive prerequisite program implemented in Novozymes' GMP practices.

The product is produced according to Novozymes' HACCP plan, GMP practices, and additional requirements controlled by Novozymes' Quality Management System.

The product complies with FAO/WHO JECFA- and FCC-recommended purity requirements regarding mycotoxins.

PACKAGING

The product is available in different types of packaging. Please contact the sales representative for more information.

CERTIFICATIONS

Novozymes is a signatory to United Nations Global Compact, United Nations Convention on Biological Diversity and report on our sustainability performance through Global Reporting Initiative (GRI). See all our commitments under sustainability on www.novozymes.com.



For more information, or for more office addresses, visit www.novozymes.com

Laws, regulations and/or third party rights may prevent customers from importing, using, processing and/or reselling the products described herein in a given manner. Without separate, written agreement between the customer and Novozymes to such effect, this document does not constitute a representation or warranty of any kind and is subject to change without further notice.

Novozymes A/S
Krogshøjvej 36
2880 Bagsvaerd
Denmark

novozymes.com

Annexe 04. calcul de volume de l'enzyme

$$T = \frac{V_i}{V_f} \rightarrow V_f = \frac{\frac{m}{d} \times 1000}{T}$$

Où :

V_i : volume d'enzyme initial ;

V_f : *Venzyme* : volume d'enzyme en μl ;

m : la masse d'enzyme en g ;

d : densité de la solution enzymatique $d=1,02$;

T : taux de dilution ,égale à 10% ;

1000 : facteur de conversion du volume en μl .

On trouve :

***Venzyme* = 58,82 μL**

Résumé

L'huile de soja est une huile végétale destinée à l'alimentation humaine, elle est extraite à partir des graines de soja, elle contient des composés indésirables, tels que le phosphore, qui doivent être éliminés au cours du raffinage.

Le présent travail est réalisé au niveau du complexe CO.G.B Labelle, il a pour objectif la comparaison de la teneur en phosphore dans les deux procédés de raffinage (chimique et enzymatique) de l'huile de soja, également la caractérisation et le suivi de l'évolution des paramètres physico-chimiques lors des différentes étapes de raffinage chimique à partir de l'huile brute jusqu'à l'huile désodorisée.

Les résultats analytiques obtenus ont montré que l'huile raffinée respectait les normes adoptées par l'entreprise, ainsi que le procédé du raffinage enzymatique, est plus avantageux par rapport au procédé chimique, et il exprime une teneur en phosphore significativement réduite grâce à l'efficacité du dégommeage appliqué à l'aide de la phospholipase A1.

Les mots clés : Huile de soja, raffinage chimique, raffinage enzymatique, analyse physico-chimique, phosphore.

Abstract

Soybean oil is a vegetable oil intended for human consumption, it is extracted from soybeans, it contains undesirable compounds, such as phosphorus, which must be eliminated during refining.

This work is carried out at the level of the CO.G.B Labelle complex, it aims to compare the phosphorus content in the two refining processes (chemical and enzymatic) of soybean oil, also the characterization and monitoring of the evolution of physico-chemical parameters during the different stages of chemical refining from crude oil to deodorized oil.

The analytical results obtained showed that the refined oil complied with the standards adopted by the company, as well as the process of enzymatic refining, is more advantageous compared to the chemical process, and it expresses a significantly reduced phosphorus content thanks to the effectiveness of degumming applied using phospholipase A1.

Key words: Soybean oil, chemical refining, enzymatic refining, physical-chemical analysis

ملخص

زيت فول الصويا هو زيت نباتي معد للاستهلاك الآدمي ، يتم استخراجة من فول الصويا ، ويحتوي على مركبات غير مرغوب فيها ، مثل الفوسفور ، والتي يجب التخلص منها أثناء التكرير .

يتم تنفيذ هذا العمل على مستوى مجمع CO.G.B Labelle ، ويهدف إلى مقارنة محتوى الفوسفور في عمليتي تكرير (كيميائية وأنزيمية) لزيت فول الصويا ، وكذلك توصيف ومراقبة تطور المعلمات الفيزيائية والكيميائية خلال مراحل مختلفة من التكرير الكيميائي من النفط الخام إلى الزيت منزوع الرائحة.

أظهرت النتائج التحليلية التي تم الحصول عليها أن الزيت المكرر المطابق للمعايير المعتمدة من قبل الشركة ، وكذلك عملية التكرير الأنزيمي ، هو أكثر فائدة مقارنة بالعملية الكيميائية ، ويعبر عن محتوى منخفض من الفوسفور بشكل كبير بفضل فعالية إزالة الصمغ. يتم تطبيقه باستخدام phospholipase A1.

الكلمات المفتاحية: زيت فول الصويا ، التكرير الكيميائي ، التكرير الأنزيمي ، التحليل الفيزيائي والكيميائي ، الفوسفور.