

Extraction, fractionnement et concentration des huiles marines

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 11, Numéro 2, 123-30, MARS/AVRIL 2004, Extraction et fractionnement des AGPI oméga 3 à longues chaînes

Auteur(s) : Michel LINDER, Jacques FANNI, Michel PARMENTIER

Laboratoire de Physico-chimie et Génie Alimentaires, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et Industries Alimentaires (ENSAIA), 54505 Vandœuvre-lès-Nancy, France

Résumé : Les huiles marines représentent des sources potentielles d'acides gras polyinsaturés (AGPI) dont les implications au niveau de la nutrition et de la santé sont avérées. Ces molécules sont extraites à partir de poissons, algues ou co-produits de la filière halieutique par des procédés de cuisson-pression, en présence de solvants ou par des techniques enzymatiques beaucoup moins drastiques. Des fractions plus ou moins purifiées en AGPI sont obtenues par cristallisation à froid, en présence de solvants organiques, complexation avec de l'urée, distillation moléculaire ou extraction par fluide supercritique. L'utilisation de lipases stéréospécifiques dans des procédés d'hydrolyse et d'estérification conduit à une diversité de molécules d'acylglycérols riches en AGPI trouvant de nombreuses applications dans le domaine de l'agroalimentaire et de la santé.

Summary : Marine oils are known to be potential polyunsaturated fatty acids (PUFA) with specific health and nutritional properties. These molecules are extracted from fish, algae and by-products resulting from the filleting operations. Heat treatments under pressure and extraction with organic solvents are widely used and compete with enzymatic processes. Fractionation including winterisation, urea complexation, molecular distillation and supercritical fluid extraction lead to PUFA concentrates used in the food, pharmaceutical and health areas.

Mots-clés : AGPI, huile marine, procédés d'extraction

Keywords : PUFA, marine oil, oil-recovery processing

ARTICLE

Les huiles de poisson présentent la particularité d'être riches en acides gras oméga 3 et notamment en acides gras polyinsaturés à longues chaînes (AGPI-LC) comme l'acide éicosapentaénoïque (EPA ; C20:5 n-3) et l'acide docosahexaénoïque (DHA ; C22:6 n-3) (*figure 1*). L'huile de foie de morue naturellement riche en vitamines A et D, ou les huiles de foies de requins riches en squalène et alkylglycérols, sont connues pour leurs vertus thérapeutiques depuis le Moyen-Âge dans les pays scandinaves et d'Extrême-Orient [1]. En 1972, une étude épidémiologique menée par Dyerberg *et al.* [2] sur une population d'esquimaux du Groenland révéla une corrélation positive entre la consommation de poissons et de mammifères marins, riches en huile polyinsaturée, et une faible incidence des maladies cardiovasculaires. Dès lors, de nombreuses études expérimentales ou épidémiologiques mettent en avant l'implication de ces AGPI-LC dans la régulation du métabolisme

et la prévention de certaines pathologies. D'excellentes synthèses bibliographiques [3-6] permettent de faire ressortir des domaines dans lesquels ces molécules semblent avoir des effets avérés, notamment sur l'athérosclérose, le cholestérol et les triglycérides plasmatiques [7-8], la diminution de la fréquence d'apparition et la sévérité des maladies cardiovasculaires [9], une incidence sur certains cancers [10-12], les fonctions cognitives [13-14] et le développement du fœtus [15-19]. Les apports en AGPI-LC de la série n-3, généralement dérivés de la consommation de produits marins restent insuffisant en France avec 20 à 35 g/jour/personne [20], et de nombreux compléments alimentaires permettent une supplémentation sous diverses formes dont la plus courante reste les microcapsules d'huiles enrichies en oméga 3. Cependant, la biodisponibilité de ces AGPI-LC dépend de la forme d'incorporation (huile, triacylglycérols, phospholipides, esters éthyliques) et de la régo-distribution des acides gras sur la molécule de glycérol [21].

Les procédés d'extraction

Les huiles marines sont généralement extraites à partir de petits pélagiques d'eau froide contenant de fortes proportions d'EPA et de DHA comme la sardine, l'anchois, le capelan, le hareng et le menhaden (*tableau 1*), dont les principaux pays producteurs sont le Japon, le Chili, le Pérou, la Norvège et les Etats-Unis. Les coproduits de la pêche, de l'aquaculture et des industries de transformation (saurisserie, conserverie) représentent par ailleurs un potentiel lipidique important. Avec 140 000 tonnes de co-produits en 2002 en France [22], le marché des huiles non raffinées (650 tonnes d'huiles en 2002) est en perte de vitesse en raison de l'application des normes de détoxification sur charbon actif appliquées aux huiles destinées à l'alimentation animale (6 pg OMS-PCDD/F-TEQ/g de graisse [23]).

Tableau 1. Composition (%) en acides gras de différentes espèces de poisson.

Acide gras	Tête de bonite ^a (partie orbitale)	Tête de thon ^a (partie orbitale)	Thon ^c	Foie de morue ^b	Sardine ^a	Menhaden ^d	Anchois ^e	Saumon ^e (Ecosse)	Saumon ^e (Norvège)	Barbeau ^f	Maquereau ^g
14:0	4,7	4,2	3,1	3,8	8,9	10,4	4,9	3,6	3,5	1,6	5,1
16:0	20,7	22,1	22,8	10,6	18,4	25,0	16,0	7,0	6,4	22,6	12,6
16:1 n-7	7,1	6,3	3,9	6,9	7,9	16,7	5,4	6,6	4,8	4,3	8,1
18:0	4,1	7,1	6,7	2,7	2,5	4,1	4,6	2,1	2,3	8,3	2,6
18:1 n-9	13,2	15,2	17,7	14,5	10,9	5,9	19,9	13,4	10,8	11,1	12,3

18:1 n-7	2,6	2,6	–	4,9	3,3	–	3,2	0,0	2,4	–	–
18:2 n-6	1,5	2,2	1,6	1,4	1,2	11,6	1,2	4,4	2,8	3,2	1,5
18:3 n-3	0,6	0,6	2,3	1,1	0,9	1,7	–	–	–	1,7	1,1
18:4 n-3	1,0	0,9	0,3	2,3	2,8	2,3	–	–	–	–	2,0
20:1 n-9	0,9	1,0	0,3	9,4	2,3	–	4,0	12,5	11,5	1,3	7,2
20:4 n-6	1,9	1,6	1,5	1,0	0,8	–	–	–	–	7,4	–
20:4 n-3	0,5	0,4	–	–	0,7	1,5	–	–	–	–	–
20:5 n-3	7,1	5,8	4,6	8,9	12,4	10,6	9,0	13,4	7,4	10, 6	6,1
22:5 n-3	1,3	1,1	–	1,1	1,4	1,5	3,2	1,0	3,4	3,2	–
22:6 n-3	24,0	22,9	18,3	10,7	9,8	6,4	13,0	10,2	14,3	19, 5	7,0

^a : [78] ; ^b : [48] ; ^c : [56] ; ^d : [44] ; ^e : [79] ; ^f : [81] ; ^g : [80]

Les technologies et brevets relatifs à l'extraction se rapportent à des étapes de « cuisson-pressage » [24-26], basées sur un traitement thermique de la matière première (poissons entiers ou écarts). Des températures supérieures à 95 °C sont obtenues directement ou indirectement par injection de vapeur, voire par ébullition ou cuisson de la matière première [27], entraînant une coagulation des protéines. La matière première est ensuite introduite dans des presses de géométrie variée afin de séparer dans des décanteurs la phase aqueuse protéique contenant l'huile des matières solides. Les eaux d'égouttage et de presse sont ensuite traitées à la vapeur vive, autorisant une meilleure séparation de la phase huileuse sur décanteur horizontal centrifuge [28-30]. L'optimisation des paramètres température, vitesses de pompage et de centrifugation sur les rendements d'extraction et sur la qualité de l'huile de coproduits de hareng a été conduite à l'échelle industrielle par Aidos *et al.* [30]. Chantachum *et al.* (2000) [31] ont étudié l'influence du traitement thermique sur la qualité de l'huile de têtes de thon extraite par pression (140 tonnes/m²) après cuisson à différentes températures (75 °C à 95 °C) pendant 10, 20 et 30 minutes. Une cuisson à 85 °C permet une meilleure libération des fractions huileuses qui serait freinée lors d'une cuisson à plus haute

température par la coagulation des protéines. Une pré cuisson des têtes semble augmenter la proportion de DHA dans l'huile, en raison d'une meilleure extraction des phospholipides, plus riche en AGPI-LC. Des procédés moins drastiques permettent de déshuiler la chair de poisson après addition d'eau, pressage à froid et centrifugation [32]. L'extraction d'huile assistée par voie enzymatique permet une valorisation des co-produits de la filière halieutique (tête, écart de filetage). La déstructuration des tissus protéiques par l'action de protéases spécifiques, conduite à basse température (inférieure à 60 °C) sous atmosphère inerte permet d'obtenir des rendements proches des extractions par solvants organiques en moins de 2 heures tout en limitant les réactions d'oxydation. Les différentes étapes de ce procédé optimisé par planification expérimentale à l'échelle pilote (400 kg) sont résumées sur la *figure 2* [33, 34].

Après filtration et séparation des fractions à haut point de fusion, l'huile de poisson subit généralement une étape de blanchiment par addition de silice amorphe et/ou de terre de diatomées, puis une désodorisation de l'huile par injection de vapeur sous vide partiel [27, 35]. Une étape de raffinage permet l'élimination des lipides polaires, et un passage sur charbon actif limite le taux de dioxine à 2 pg OMS-PCDD/TEQ/g huile destinée à la consommation humaine [36]. En raison des difficultés rencontrées au cours des procédés de concentration et de purification des AGPI-LC à partir des huiles de poisson, les recherches s'orientent vers de nouvelles sources d'huiles riches en AGPI-LC. Les microalgues représentent une source d'AGPI-LC alternative qui suscite de plus en plus d'intérêt, en raison de leur profil en acides gras relativement simple et de leur richesse spécifique en EPA et DHA [37]. Robles Médina *et al.* [38] ont montré que *Phaeodactylum tricornutum* est une espèce riche en EPA avec de très faibles proportions de DHA et d'AA. *Porphyridium cruentum* est quant à elle riche en AA et en EPA (*tableau 2*). D'autres souches de microalgues sont par ailleurs très riches en DHA comme *Cryptocodinium cohnii* et font l'objet d'études d'optimisation des paramètres de production à l'échelle industrielle [39]. L'extraction d'AGPI à partir de biomasse microalgale est généralement effectuée en présence de solvants organiques. Giménez Giménez *et al.* [40] arrivent à extraire jusqu'à 75 % des lipides d'une microalgue *Porphyridium cruentum* en utilisant un mélange d'hexane : éthanol 96 % (1 :2,5 vol :vol) sur de la biomasse lyophilisée. Ce mélange semble être le plus adapté pour l'extraction de lipides, d'autres microalgues comme *Isochrysis galbana* et *Phaeodactylum tricornutum* où l'EPA et l'acide arachidonique représentent près de 47 % des acides gras totaux.

Tableau 2. Composition en acides gras principaux de différentes microalgues (%).

	<i>Isochrysis galbana</i> ^a	<i>P. tricornutum</i> ^b	<i>P. cruentum</i> ^b	<i>Cryptocodinium cohnii</i> ATCC 30556 ^c
Acide gras				
14:0	10,1	5,9	0,5	13,98
16:0	20,3	14,5	26,4	14,73
16:1n-7	21,4	0,7	0,9	–
18:0	0,7	0,3	0,7	10,29

18:1n-9	1,4	0,7	0,6	1,52
18:1n-7	3,6	0,8	1,2	–
18:2n-6	0,9	2,7	8,1	Non détecté
18:3n-3	1,2	0,4	–	Non détecté
18:4n-3	6,4	0,2	–	Non détecté
20:1n-9	0,2	–	–	Non détecté
20:4n-6	0,7	3,2	26,4	–
20:4n-3	–	0,6	0,1	–
20:5n-3	22,6	24,3	27,5	Non détecté
22:5n-3	0,2	2,2	–	0,38
22:6n-3	8,4	1,0	0,4	57,32

^a : [38] ; ^b : [39] ; ^c : [49]

Les procédés de fractionnement et de concentration des AGPI

Concentration par wintérisation

Compte tenu de l'intérêt que présentent les AGPI pour la santé humaine, de nombreux procédés de concentration permettent d'obtenir des huiles enrichies en AGPI-LC, notamment par cristallisation à basse température. L'abaissement de la température à – 38 °C d'une huile de menhaden en présence d'acétone [41], provoque une cristallisation des acides gras à haut point de fusion et conduit à une concentration des AGPI. Une cristallisation à – 60 °C d'une huile de tête de bonite conduit à une augmentation du DHA de 24 à 31,4 % [42]. Une hydrolyse alcaline d'huile de sardine [43] ou enzymatique d'une huile de menhaden par la lipase PS-30 de *Pseudomonas* sp. (cristallisation à – 72,5 °C, 24 h en présence d'acétone) améliore significativement la concentration en EPA (10,6 à 20,8 %) et en DHA (6,4 à 15,4 %) [44]. Un brevet japonais propose de concentrer des AGPI, en se basant sur la différence de solubilité dans l'éthanol de sels d'acides gras obtenus après saponification. Le mélange est ensuite refroidi à différentes températures et vitesses. Les sels d'acides gras saturés ou contenant peu de doubles liaisons cristallisent plus facilement que les AGPI à longue chaîne. Il est ainsi possible de concentrer à température ambiante l'EPA et le DHA provenant d'une huile de sardine par un facteur 2,3 [45].

Concentration par complexation avec de l'urée

La concentration de la fraction d'acides gras polyinsaturés présente dans les huiles marines peut s'effectuer par complexation et précipitation avec de l'urée. Ce procédé, développé par Bengen en

1940 [46], est souvent mis en œuvre en tant que prétraitement des huiles riches en AGPI. Le principe de cette méthode repose sur la propriété de l'urée à cristalliser sous la forme d'une structure compacte tétragonale stable, formant des canaux de 5,67 de diamètre. En présence de molécules linéaires, l'urée cristallise sous la forme de cristaux hexagonaux présentant des canaux de 8 à 12 de diamètre interne. Cette structure spatiale lui permet de se complexer avec des chaînes aliphatiques d'acides gras saturés comportant 6 carbones, voire plus. Il faut noter que la présence d'une ou plusieurs doubles liaisons dans la chaîne carbonée entraîne une courbure de la molécule qui réduit la formation et la stabilité du complexe avec l'urée (*figure 4*). Après une étape de saponification en présence de KOH ou NaOH en solution éthanolique, l'huile est débarrassée de sa fraction insaponifiable contenant de nombreux composés, parmi lesquels on retrouve des stérols, des vitamines liposolubles et certains xénobiotiques. Les acides gras sont ensuite dissous dans un mélange alcool/urée et refroidis à une température qui permet d'atteindre le degré de concentration désiré. Les acides gras saturés, les monoènes et les diènes pour une partie seulement cristallisent, autorisant ainsi une filtration des AGPI encore solubles dans le solvant. Gamez-Meza *et al.* [47] ont obtenu des concentrés d'EPA et de DHA par cristallisation à l'urée après une hydrolyse enzymatique d'huile de sardine en milieu aqueux en testant différentes souches de lipases produites par *Pseudomonas*. Après saponification et extraction par l'hexane des acides gras libres, 15 g d'AGL sont mélangés à 25 g d'urée en solution éthanolique à 95 % puis refroidis à 5 °C pendant 8 h. Les cristaux sont éliminés par centrifugation et le surnageant est maintenu à - 30 °C. Après acidification à pH 4, cette méthodologie permet d'éliminer totalement les acides gras saturés et d'obtenir 92,9 % d'AGPI n-3 sous forme libre dans le concentré. L'EPA est enrichi de 14,5 à 46,2 % et le DHA de 12,5 à 40,3 % avec 78 % de rendement. La formation d'inclusions en présence d'urée et d'acides gras saturés et monoinsaturés dépend fortement de la température. Il semble qu'une température de 4 °C améliore le rendement en AGPI et particulièrement en DHA, alors qu'une cristallisation à 20-28 °C favorise la concentration en EPA [48]. Ce procédé de concentration (*figure 4*) est appliqué à de l'huile de foie de morue après des étapes successives de saponification, de concentration par urée et d'une purification par chromatographie liquide haute performance (CLHP). Il est ainsi possible d'obtenir à partir de 400 g d'huile des rendements en EPA et DHA supérieurs à 82,4 %. La concentration en EPA et DHA obtenue à partir de l'huile de foie de morue à 4°C dépend du rapport urée sur acides gras [49]. Un rapport urée/acides gras de 4:1 conduit à des fractions enrichies en EPA (25,6 %) et DHA (59,9 %) pour l'huile de foie de morue. Il apparaît cependant que ce procédé de concentration demande de grandes quantités de solvant, de produits chimiques, et génère une masse importante de co-produits qu'il est nécessaire de retraiter. Une étude à grande échelle (29 800 kg d'esters éthyliques d'huile de poisson) contenant approximativement 28 % d'EPA + DHA permet d'obtenir un concentré à 84 % d'EPA + DHA avec un rendement de 31 %. Pour obtenir les 3 140 kg de cette fraction, 16 150 kg d'urée et un retraitement de 18 890 kg d'urée complexée avec les acides gras ont été nécessaires [50].

Concentration par méthodes chromatographiques et distillation

Le fractionnement et la concentration des acides gras libres ou estérifiés au-dessus de 90 % sont rendus possibles par des techniques chromatographiques préparatives, basées sur une séparation des acides gras en fonction de la longueur de chaînes ou de leur degré d'insaturation. La chromatographie liquide haute performance ou la chromatographie sur gel de silice argentique (SiO₂-AgNO₃) sont utilisées pour obtenir des concentrés fortement purifiés en AGPI.

Tokiwa *et al.* [51] arrivent à obtenir à partir d'un mélange d'esters méthyliques (EPA : 30 % ; DHA : 30 %) une fraction enrichie à 91 % pour l'EPA (rendement 66 %) et une fraction enrichie à 85 % pour le DHA (rendement 53 %), mais avec une productivité relativement faible (environ de 2 g/h). La séparation sur colonne à compression radiale (Waters ; C₁₈ 50-100 µm 30 cm × 5,7 cm) s'effectue avec un mélange éluant de tétrahydrofurane/méthanol/eau. Des rendements en EPA et DHA plus élevés sont obtenus à partir d'un mélange d'EPA (36,8 %) et de DHA (40,1 %) après précipitation à l'urée [52]. 87 % d'EPA et 81 % de DHA sont obtenus avec un mélange éluant méthanol/eau sur une colonne à compression radiale (Waters ; C₁₈ 55-105 µm 20 cm × 6,0 cm) conduisant à une production de l'ordre de 40 g/h. A partir d'un mélange d'esters méthyliques d'EPA (47 %) et de DHA (30 %), Perrut [53] utilise une colonne à compression axiale Prochrom (C₁₈ 12-45 µm 0,3m × 30 cm) avec un mélange méthanol/eau (200 l/h) permettant d'obtenir des fractions contenant 91 à 96 % d'EPA (198 g/h) et 75 à 85 % de DHA (127 g/h). Plus récemment, Guil-Guerrero et Belarbi (2001) [48] obtiennent à partir d'une huile de foie de morue concentrée par urée, des fractions enrichies en EPA (pureté 78-80 %) et de DHA (pureté 94-100 %).

La distillation peut aussi être utilisée pour séparer partiellement des mélanges d'esters d'acides gras. Elle repose sur les différences de points d'ébullition et de poids moléculaires des acides gras et se pratique généralement à des températures élevées de l'ordre de 250 °C. Moore et McNeill [59] utilisent ce procédé à la température de 190 °C pour séparer les acides gras libres du mélange d'acylglycérols d'huile de poisson chilien hydrolysée par *Candida rugosa*. Des températures plus faibles (125 °C sous 0,005 mbar) permettent de séparer des fractions d'EPA et DHA à partir d'huile de sardine par distillation fractionnée [50].

Concentration par fluide supercritique

Les procédés d'extraction d'AGPI utilisant des solvants organiques permettent d'obtenir des rendements relativement élevés mais posent certaines contraintes quant à l'élimination des résidus présents dans les concentrés. La chromatographie liquide haute performance conduit à l'obtention de fractions à haute concentration en EPA et DHA, mais la séparation solvant-produit reste délicate et coûteuse. Le fractionnement des esters d'acides gras par le dioxyde de carbone supercritique, en raison de ses propriétés (inerte, non inflammable, faible coût, compatible avec l'environnement) est un procédé alternatif qui peut être réalisé à l'échelle industrielle [55, 56]. L'extraction par fluide supercritique d'huile de krill de l'Antarctique (*Euphausias superba*) riche en phospholipides a permis d'extraire 11,2 % d'huile totalement dépourvue de lipides polaires sur un échantillon de krill lyophilisé en une seule étape [63]. Ce procédé d'extraction et de concentration des AGPI fait l'objet d'un article spécifique développé par ailleurs dans ce dossier.

Des lipases spécifiques pour la concentration en AGPI

D'origines fongiques, bactériennes, pancréatiques ou gastriques, les lipases (glycérol-ester-hydrolase, E.C.3.1.1.3.) catalysent l'hydrolyse d'un grand nombre d'esters carboxyliques et présentent une spécificité marquée envers les substrats glycéridiques. Zuyi et Ward [58] utilisent une réaction d'alcoololyse en présence d'huile de foie de morue (9 lipases et 10 solvants) conduisant à un concentré de mono-acylglycérols contenant 40 % d'AGPI-LC. Des réactions d'acidolyse [59] ou de transestérification [60] permettent en outre de concentrer les AGPI-LC sous forme de TAG. Haraldsson et Kristinsson [61] obtiennent 65 % de conversion en esters éthyliques lors d'une réaction de transestérification sur de l'huile de thon (6 % EPA et 23 % de DHA) avec de l'éthanol après 24 h.

Les lipases font preuve d'une grande spécificité au niveau de la position des acides gras sur la molécule de glycérol (*tableau 3*) [62-64]. L'objectif des procédés de concentration en AGPI par voie enzymatique consiste dans une première étape à hydrolyser spécifiquement les acides gras sur la molécule de glycérol en fonction de la nature de l'huile et de la régio-distribution de ces composés. Après élimination des acides gras saturés libres, les AGPI sont ré-estérifiés sous forme d'acylglycérols à l'aide de lipases stéréospécifiques.

Tableau 3. Caractéristiques des principales lipases microbiennes utilisées dans les procédés de concentration d'AGPI.

Nature de la lipase	Spécificité	Température	pH optimum	Auteurs
<i>Aspergillus niger</i>	1-,3 >> 2	30-40	5,0-7,0	[1-4]
<i>Mucor miehei</i>	1-,3 >>> 2	30-45	6,5-7,5	[1]
<i>Rhizopus oryzae</i>	1-,3 >>> 2	30-45	5,0-8,0	[1]
<i>Rhizopus niveus</i>	1-,3 >>> 2	30-45	5,0-8,0	[1]
<i>Candida cylindracea</i>	Non spécifique	30-50	5,0-8,0	[1-2]
<i>Chromobacterium viscosum</i>	Non spécifique	60-70	–	[1-2-4]
<i>Geotrichum candidum</i>	Non spécifique	30-45	6,0-8,0	[1-4]
<i>Pseudomonassp.</i>	Non spécifique	40-60	5,0-9,0	[1-3]
<i>Rhizopus delemar</i>	1-,3	30-45	–	[2-4]
<i>Rhizopus javanicus</i>	1-,3	30-45	–	[2]
<i>Candida lipolytica</i>	1-,3 > 2	–	–	[3]
<i>Humicola lanuginosa</i>	1-,3 >> 2	–	–	[3]
<i>Mucor javanicus</i>	1-,3 > 2	–	–	[3]
Pancréatique	1-,3	–	–	[3]

Réf : [62, 64, 65, 68].

Les travaux de Tanaka *et al.* [65] ont montré la spécificité d'action de 6 lipases envers les AGPI-LC d'huile de thon (5,6 % EPA ; 25,1 % DHA). Après 70 % d'hydrolyse de l'huile de thon en milieu aqueux (huile/eau distillée 1:1) par la lipase *Candida cylindracea* et élimination des AGL, le mélange d'acylglycérols résiduels contient trois fois plus de DHA que le milieu initial. Ces travaux montrent une discrimination de cette lipase non stéréospécifique envers le DHA qui peut s'expliquer par la

structure même de cet acide gras, et non pas uniquement par sa régio-distribution. Le grand nombre d'insaturations provoque un repliement de l'extrémité méthyle terminale de la chaîne hydrocarbonée vers la liaison ester du TAG, entravant l'activité hydrolytique de la lipase. En 1994, Maehr *et al.* [66] étudient l'hydrolyse de l'huile de menhaden et d'anchois avec la lipase de *Pseudomonas*, Amano P. La spécificité de coupure de cette lipase pour les positions *sn*-1 et *sn*-3 permet d'augmenter considérablement la proportion de DHA et d'EPA sous la forme de monoacylglycérol, après extraction aux solvants (hexane, méthanol/éthanol). McNeill *et al.* [67] ont dans la même optique, étudié différentes lipases susceptibles d'hydrolyser des huiles de poisson ainsi que leur spécificité vis-à-vis de l'EPA et du DHA. Une hydrolyse de 50 % de l'huile peut être obtenue après 24 h de réaction en présence de *Candida rugosa*. Pour augmenter la proportion d'AGL, il est nécessaire d'ajouter des quantités d'enzymes plus importantes et de conduire la réaction sur 60 h. L'analyse des acides gras dans les classes de di- et triacylglycérols révèle une augmentation des AGPI de 30 à 45 %. L'accroissement du rapport DHA/EPA montre une forte sélectivité de la lipase pour le DHA. D'un autre côté, la régio-sélectivité des lipases par rapport à la molécule de triacylglycérol ne peut à elle seule expliquer l'hydrolyse des AGPI, et principalement l'hydrolyse de l'EPA et du DHA [68]. De nombreux facteurs interviennent au niveau de la réaction, notamment la nature de l'huile hydrolysée, la position des acides gras sur le glycérol, la vitesse des réactions inverses qui peuvent apparaître au cours de l'hydrolyse, et la réactivité de la lipase en fonction des acylglycérols néoformés pendant la réaction. Les auteurs obtiennent un degré d'hydrolyse supérieur à 70 % après 9 h de réaction pour de l'huile de phoque (EPA : 6,41 % ; DHA : 7,58 %) alors qu'aucune enzyme utilisée ne permet d'atteindre ce pourcentage après 75 h de réaction concernant l'huile de menhaden (EPA : 13,23 % ; DHA : 10,06 %). Le contrôle de la réaction d'hydrolyse enzymatique s'effectue par le rapport indice d'acide/indice de saponification [65, 68] ou la mesure d'acidité [67]

Plus récemment Sun *et al.* [69] étudient l'influence de 6 lipases commerciales sur la valorisation des AGPI-LC présents dans les viscères du saumon d'Atlantique (*Salmo salar*). Les résultats montrent que l'utilisation de la lipase *P. cepacia* permet d'augmenter la concentration en EPA de 64 mg/g d'huile à 102 mg/g en 12 h. La lipase *C. rugosa* semble la plus adaptée pour concentrer les acides DHA + EPA (185 mg/g d'huile en 12 h). Une hydrolyse ménagée d'huile de saumon en présence d'une lipase stéréospécifique *sn*-1, *sn*-3 de *Aspergillus oryzae* permet d'obtenir un mélange d'acides gras libres et d'acylglycérols [70, 71]. Après séparation de la phase aqueuse par centrifugation du mélange réactionnel, la phase lipidique est fractionnée par une filtration membranaire à basse température, permettant une élimination des acides gras libres et des acylglycérols à hauts points de fusion (*figure 5*). La filtration membranaire est aussi utilisée dans le domaine de la restructuration de lipides. Après une réaction d'acidolyse d'un concentré d'AGPI de poisson (35 % EPA et 25 % DHA) et de triacylglycérols (40 % acides caprique, 60 % caprylique), l'action d'une lipase *sn*-1, *sn*-3 immobilisée (lipozyme IM) en réacteur équipé de membranes hydrophiles [71-73] permet d'obtenir une incorporation maximale d'EPA/DHA dans les lipides restructurés (44,4 % mole, 80 h). Les concentrés d'acides gras obtenus par hydrolyse chimique en milieu alcalin suivi d'une étape de concentration (cristallisation en présence de solvant, urée) ou par hydrolyse enzymatique, ne sont généralement pas utilisés sous forme libre.

Une réaction d'estérification permet de restructurer des triacylglycérols à partir d'acides gras libres et/ou d'acylglycérols. Généralement conduite en présence de solvant(s) organique(s), cette réaction fait l'objet de nombreux travaux d'optimisation, car de nombreux paramètres influencent le

rendement d'estérification (quantité d'eau présente, ratio glycérol/ AGPI, vitesse d'agitation...). Robles Médina *et al.* [41] ont montré qu'en présence d'hexane, il était possible d'obtenir un degré d'estérification de 87 % avec un rendement de 85 % en TG à partir d'un concentré d'acides gras libres d'huile de foie de morue. Les réactions sont généralement conduites à basse température entre 30 et 60 °C. La lipase a besoin d'une teneur minimale en eau pour conserver une conformation tridimensionnelle active [74]. Une teneur voisine de 1 % en eau conduit à une synthèse optimale de TAG à partir d'acides gras d'huile de foie de morue en présence de lipozyme IM, novozym 435 et de lipase PS [75]. L'élimination de l'eau formée au cours de la réaction améliore les rendements de synthèse des TAG par addition de tamis moléculaires ou barbotage d'azote dans le milieu réactionnel, au cours d'une réaction d'estérification, d'un mélange d'acylglycérols d'huile de poisson et de glycérol par *Rhizomucor miehei* [67, 76].

Conclusion

Les huiles marines représentent une source importante d'acides gras polyinsaturés à longue chaîne dont les implications positives sur la santé humaine sont désormais avérées. Nous avons passé en revue les principales techniques d'extraction et de concentration faisant appel à des traitements thermiques, mécaniques, ou assistés par voie enzymatique préservant au mieux la qualité de ces longues chaînes insaturées. L'utilisation d'enzymes stéréospécifiques de plus en plus nombreuses sur le marché, contribue au développement de procédés d'extraction sans solvant organique, alternatifs aux techniques onéreuses conduisant à des fractions purifiées à l'image de l'extraction au CO₂ supercritique. Il est désormais possible d'obtenir des concentrés d'oméga 3 sous forme de triacylglycérols restructurés présentant la meilleure biodisponibilité pour ces acides gras polyinsaturés à longue chaîne.

RÉFÉRENCES

1. BORCH-JENSEN C, MAGNUSSEN MP, MOLLERUP J. Capillary supercritical fluid chromatographic analysis of shark liver oils. *J Am Oil Chem Soc* 1997 ; 74 : 497-503.
2. DYERGERG J, BANG HO, HJORNE N. Fatty Acid Composition of the Plasma Lipids in Greenland Eskimos. *Am J Clin Nutr* 1975 ; 958-66.
3. KINSELLA JE. Food lipids and fatty acids : importance in food quality, nutrition, and health. *Food Technol* 1988 ; 124-45.
4. SIMOPOULOS A. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr* 1991 ; 54 : 438-63.
5. THOMAS LM, HOLUB BJ. Nutritional aspects of fats and oils. In : *Technological advances in improved and alternative sources of lipids*. BS Camel, Y Kakuda, ed. Blackie Academic, Professional, 1994 ; 16-49.
6. HORROCKS LA, YEO YK. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). *Pharmacological Research* 1999 ; 40 : 211-25.

7. ZYRIAX BC, WINDLER E. Dietary fat in the prevention of cardiovascular disease – A review. *Eur J Lipid Sci Technol* 2000 ; 355-65.
8. TORRES IC, MIRA L, ORNELAS CP, MELIM A. Study of the effects of dietary fish intake on serum lipids and lipoproteins in two populations with different dietary habits. *British Journal of Nutrition* 2000 ; 83 : 371-9.
9. GRYNBERG A, OUDOT F, MCLENNAN PL, ATHIAS P. Acide gras oméga-3 et prévention cardiovasculaire. *Cah Nutr Diét* 1997 ; 32 : 107-14.
10. MAILLARD V, CHAJES V, FERRARI P, PINAULT M, JOURDAN ML, BODY G, LE FLOCH O, BOUGNOUX P. Acides gras polyinsaturés n-3 et risque de cancer du sein : étude épidémiologique biochimique cas-témoins. *OCL* 2000 ; 7 : 6.
11. UAUY R, HOFFMAN DR. Essential fat requirements of preterm infants. *Am J Clin Nutr* 2000 ; 71 : 245S-250S.
12. BOUGNOUX P. Omega-3 fatty acids, CLA and breast cancer. Plenary lecture. *25th World Congress and Exhibition of the International Society to Fat Research (ISF)* 2003.
13. CHALON S. Acides gras polyinsaturés n-3, neurotransmission et fonctions cognitives, *OCL* 2000 ; 7 : 68-73.
14. DURAND G, GUESNET P, CHALON S, ALESSANDRI JM, RIZKALLA S, LEBRANCHU Y. Importance nutritionnelle des acides gras polyinsaturés. *In : Aliments fonctionnels*. ed Sciences, Techniques Agroalimentaires, Londres. 2002 ; 193-230.
15. BOURRE JM. Développement du cerveau et acides gras polyinsaturés. *OCL* 1996 ; 3 : 173-7.
16. HORROCKS LA, YEO YK. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). *Pharmacological Research* 1999 ; 40 : 211-25.
17. BONDIA-MARTINEZ E, LOPEZ-SABATER MC, CASTELLOTE-BARGALLO AI, RODRIGUEZ-PALMERO M, GONZALEZ-CORBELLA MJ, RIVERO-URGELL M, CAMPOY-FOLGOSO C, BAYES-GARCIA R. Fatty acid composition of plasma and erythrocytes in term infants fed human milk and formulae with and without docosahexaenoic and arachidonic acids from egg yolk lecithin. *Early Human Development* 199 ? ; 53 : S109-S119.
18. GHEBREMESKEL K, CRAWFORD MA, LOWY C, MIN Y, THOMAS B, GOLFETTO I, BITSANIS D. Arachidonic and docosahexaenoic acids are strongly associated in maternal and neonatal blood. *European Journal of Clinical Nutrition* 2000 ; 54 : 50-6.
19. ACKMAN RG. Docosahexaenoic acid in the infant and its mother. *Lipids* 1999 ; 34 : 125-8.
20. Rapport AFSSA. Acides gras de la famille omega 3 et système cardiovasculaire : intérêt nutritionnel et allégations, 2003.
21. BORG P. Comparaison entre différents procédés de synthèse de triacylglycérols d'acides gras polyinsaturés n-3 par voie enzymatique en milieu non-conventionnel. *Thèse de l'Institut National Polytechnique de Lorraine*, 2000.

22. ANDRIEUX G. La filière française des co-produits de la pêche et de l'aquaculture : Etat des lieux et analyse. DESS Exploitation des Ressources Vivantes Côtières. Université de Caen, 2003.
23. CDR de l'INFORMA. Arrêté du 14 août 2002 fixant les teneurs maximales pour les substances et produits indésirables dans l'alimentation des animaux, 2002.
24. TAKAHASHI C, MITSUI K. Improvements relating to the extraction of oils from fish. *Patent* GB199054, 1923.
25. FAWCETT EW. Process of refining crude fats and fatty oils. *Patent* GB438056, 1935.
26. FOSSE J. Improved apparatus for the heat treatment of animal material, especially from whale, herring, or fishes for the production of oil and dry stuff. *Patent* GB590638, 1947.
27. CROWTHER JB, BOOTH BH, BLACKWELL DD. Procédé de production d'une huile de poisson de qualité alimentaire. *Brevet* WOUS0042535, 2000.
28. BOUCHEZ P. Animaux marins. *In : Manuel des corps gras*. A. Karleskind, ed. Londres Tec, Doc, 1992 ; 782-7.
29. ACKMAN RG. Animal and marine lipids. *In : Technological advances in improved and alternative sources of lipids*. BS Kamel et Y Kakuda. Blackie Eds., Academic, Professional, 1994 ; 292-328.
30. AIDOS I, KREB N, BOONMAN N, LUTEN JB, BOOM RM, VAN DER PADT A. Influence of production parameters on fish oil quality in a pilot plant. *J Food Sci* 2003 ; 68 : 581-7.
31. CHANTACHUM S, SOOTTAWAT B, SRIWIRAT N. Separation and quality of fish oil from precooked and non-precooked tuna heads. *Food Chemistry* 2000 ; 69 : 289-94.
32. BARRIER P, ROUSSEAU JY. Procédé et installation d'extraction d'huile de poisson et produits obtenus. *Brevet* n° 96 15503 ; 1996.
33. LINDER M, FANNI J, PARMENTIER M, REGNAULT P. Procédé d'extraction d'huile par voie enzymatique et obtention d'hydrolysats protéiques à fonctionnalités dirigées. *Brevet* FR 2.835.703, 2002.
34. Office National Interprofessionnel Des Produits de la Mer et de l'Aquaculture. Co-valorisation des fractions protéiques et lipidiques après destructuration enzymatique des écarts de poisson : production d'hydrolysats protéiques à caractéristiques fonctionnelles ciblées, et obtention par filtration membranaire de fractions lipidiques enrichies en acides gras polyinsaturés, 2002.
35. NEWTON IS. Food enrichment with long-chain n-3 PUFA. *Inform* 1996 ; 2 : 169-77.
36. Journal Officiel des Communautés Européennes. *Règlement* CE 2375/2001, 2001.
37. ROBLES MEDINA A, MOLINA GRIMA E, GIMÉNEZ GIMÉNEZ A, IBANEZ GONZALEZ MJ. Downstream processing of algal polyunsaturated fatty acids. *Biotechnology Advances* 1998 ; 16 : 517-80.
38. ROBLES MEDINA A, ESTEBAN CERDAN L, GIMÉNEZ GIMÉNEZ A, CAMACHO PAEZ B, INANEZ GONZALEZ MJ, MOLINA GRIMA E. Lipase-catalyzed esterification of glycerol and polyunsaturated fatty acids from fish and microalgae oils. *J Biotechnol* 1999 ; 70 : 379-91.

- 39.** JIANG Y, CHEN F. Effects of temperature and temperature shift on docosahexaenoic acid production by the marine microalga *Cryptothecodinium cohnii*. *J Am Oil Chem Soc* 2000 ; 77 : 613-7.
- 40.** GIMÉNEZ GIMÉNEZ A, IBANEZ GONZALEZ MJ, ROBLES MEDINA A, MOLINA GRIMA E, GARCIA SALAS S, ESTEBAN CERDAN L. Downstream processing and purification of eicosapentaenoic (20 :5n-3) and arachidonic acids (20 :4n-6) from the microalga *Porphyridium cruentum*. *Bioseparation* 1998 ; 7 : 89-99.
- 41.** LEE TK, FOGLIA TA. Fractionation of menhaden oil and partially hydrogenated menhaden oil : characterization of triacylglycerol fractions. *J Am Oil Chem Soc* 2001 ; 78 : 297-303.
- 42.** MOFFAT CF, MCGILL AS, HARDY R, ANDERSON RS. The production of fish oils enriched in polyunsaturated fatty acid-containing triglycerides. *J Am Oil Chem Soc* 1993 ; 70 : 133-8.
- 43.** SCHMITT-ROSIERES M, DEYRIS V, COMEAU LC. Enrichment of polyunsaturated fatty acids from sardine cannery effluents by enzymatic selective esterification. *J Am Oil Chem Soc* 2000 ; 77 : 329-32.
- 44.** ROBLES VJ, GARCIA HS, MONROY, JA, ANGULO O. Lipase-catalyzed esterification of glycerol with n-3 polyunsaturated fatty acids from winterized fish oil. *Food Sci Tech Int* 1998 ; 4 : 401-5.
- 45.** HAN D, SHIN HK, HOO YOON S. Separation of ω 3 polyunsaturated fatty acids from fish oil and stabilisation of the oil against autoxidation. In : *Flavor and lipid chemistry of seafoods*. Eds. F Shahidi and KR Cadwallader, 1997 ; 21 : 255-63.
- 46.** BENGEN MF. *Brevet allemand* OZ123438, 1940.
- 47.** GAMEZ-MEZA N, NORIEGA-RODRIGUEZ JA, MEDINA-JUAREZ LA, ORTEGA-GARCIA J, MONROY-RIVERA J, TORO-VAZQUEZ FJ, GARCIA HS, ANGULO-GUERRERO O. Concentration of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid from fish oil by hydrolysis and urea complexation. *Food Res Inter* 2003 ; 36 : 721-7.
- 48.** GUIL-GUERRERO JL, BELARBI EH. Purification process for cod liver oil polyunsaturated fatty acids. *J Am Oil Chem Soc* 2001 ; 78, 5 : 477-84.
- 49.** ROBLES MEDINA A, GIMÉNEZ GIMÉNEZ A, GARCIA CAMACHO F, SANCHEZ PEREZ JA, MOLINO GRIMA E, CONTRERAS GOMEZ A. Concentration and purification of stearidonic, eicosapentaenoic, and docosahexaenoic acids from cod liver oil and marine microalga *Isochrysis galbana*. *J Am Oil Chem Soc* 1995 ; 72 : 575-83.
- 50.** BREIVIK H, HARALDSSON G, KRISTINSSON B. Preparation of highly purified concentrates of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. *J Am Oil Chem Soc* 1997 ; 74 : 1425-9.
- 51.** TOKIWA S, KANAZAWA A, TESHIMA SI. Preparation of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acids by reversed phase HPLC. *Bull Jap Soc of Scientific Fisheries* 1981 ; 47 : 675.
- 52.** WILLE HJ, TRAITLER H, KELLY M. Production of polyenoic fish oil fatty acids by combined urea fractionation and industrial scale preparative HPLC. *Revue française des corps gras* 1987 ; 2 : 69-74.
- 53.** PERRUT M.. Purification of polyunsaturated fatty acid (EPA and DHA) ethyl esters by preparative high performance liquid chromatography. *LS-GC* 1988 ; 6 : 914-20.

54. MOORE SR, MCNEILL GP. Production of triglycerides enriched in long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids from fish oil. *J Am Oil Chem Soc* 1996 ; 73 : 1409-14.
55. BARTH D. Purification et fractionnement en milieux non conventionnels. Application aux esters éthyliques d'acides gras polyinsaturés. In : *Journée Chevreul de Nancy « Oléagineux et corps gras du futur »*, eds. M Parmentier et J Fanni, 1995 ; 154-71.
56. ALKIO M, GONZALEZ C, JÄNTTI M, AALTONEN O. Purification of polyunsaturated fatty acid esters from tuna oil with supercritical fluid chromatography, *J Am Oil Chem Soc* 2000 ; 77 : 315-21.
57. YAMAGUCHI K, MURAKAMI M, NAKANO H, KONOSU S, KOKURA T, YAMAMOTO H, KOSAKA M, HATA K. Supercritical carbon dioxide extraction of oils from Antarctic krill. *J Agric Food Chem* 1986 ; 34 : 904-7.
58. ZUYI L, WARD OP. Lipase-catalyzed alcoholysis to concentrate the n-3 polyunsaturated fatty acid of cod liver oil. *Enzyme Microb Technol* 1993 ; 15 : 601-6.
59. YAMANE T, SUZUKI T, HOSHINO T. Increasing n-3 polyunsaturated fatty acid content of fish oil by temperature control of lipase-catalyzed acidolysis. *J Am Oil Chem Soc* 1993 ; 70 : 1285-7.
60. HARALDSSON GG, KRISTINSSON B, SIGURDARDOTTIR R, GUDMUNDSSON GG, BREIVIK H. The preparation of concentrates of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid by lipase-catalyzed transesterification of fish oil with ethanol. *J Am Oil Chem Soc* 1997 ; 74 : 1419-24.
61. HARALDSSON GG, KRISTINSSON B. Separation of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in fish oil by kinetic resolution using lipase. *J Am Oil Chem Soc* 1998 ; 75 : 1551-6.
62. ERGAN F, TRANI M. Effect of lipase specificity on triglyceride synthesis. *Biotechnology Letters* 1991 ; 13 : 19-24.
63. VILLENEUVE P, FOGLIA TA. Lipase specificities : Potential application in lipid bioconversions. *Inform* 1997 ; 8 : 640-50.
64. XU X. Production of specific-structured triacylglycerols by lipase-catalyzed reactions : a review. *Eur J Sci Technol* 2000 ; 287-303.
65. TANAKA Y, HIRANO J, FUNADA T. Concentration of docosahexaenoic acid in glyceride by hydrolysis of fish oil with *Candida cylindracea* lipase. *J Am Oil Chem Soc* 1992 ; 69 : 1210-4.
66. MAEHR H, ZENCHOFF G, COFFEN DL. Enzymic enhancement of n-3 fatty acid content in fish oils. *J Am Oil Chem Soc* 1994 ; 71 : 463-7.
67. MCNEILL GP, ACKMAN RG, MOORE S. Lipase-catalyzed enrichment of long-chain polyunsaturated fatty acids. *J Am Oil Chem Soc* 1996 ; 73 : 1403-7.
68. WANASUNDARA UN, SHAHIDI F. Lipase-assisted concentration of n-3 polyunsaturated fatty acids in acylglycerols from marine oils. *J Am Oil Chem Soc* 1998 ; 75 : 945-51.
69. SUN T, PIGOTT GM, HERWING RP. Lipase-assisted concentration of n-3 polyunsaturated fatty acids from viscera of farmed atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *J Food Sci* 2002 ; 1 : 130-6.

- 70.** LINDER M, MATOUBA E, FANNI J, PARMENTIER M. n-3 PUFA enrichment of salmon oil as obtained by lipolysis, filtration and enzymatic re-esterification. *Eur J Lipid Sci Technol* 2002 ; 8, vol 104 : 455-62.
- 71.** PARMENTIER M, FANNI J, LINDER M. Technologies membranaires en lipotechnie. In : *Lipides et corps gras alimentaires*. Cord. J. Graille. Edition Tec & Doc, 1993 ; 107-46.
- 72.** XU X, MU H, SKANDS ARH, HOY CE, ADLER-NISSEN J. Parameters affecting diacylglycerol formation during the production of specific-structured lipids by lipase-catalyzed interesterification. *J Am Oil Chem Soc* 1999 ; 76 : 175-81.
- 73.** XU X, SKANDS A, JONSSON G, ADLER-NISSEN J. Production of structured lipids by lipase-catalysed interesterification in an ultrafiltration membrane reactor. *Biotechnology Letters* 2000 ; 22 : 1667-71.
- 74.** YAHYA ARM, ANDERSON WA, MOO-YOUNG M. Ester synthesis in lipase-catalyzed reactions. *Enzyme and Microbial Technology* 1998 ; 23 : 438-50.
- 75.** ESTEBAN CERDAN L, ROBLES MEDINA A, GIMÉNEZ GIMÉNEZ A, IBANEZ GONZALEZ MJ, MOLINA GRIMA. Synthesis of polyunsaturated fatty acid-enriched triglycerides by lipase-catalyzed esterification. *J Am Oil Chem Soc* 1998 ; 75 : 1329-37.
- 76.** LINDER M, KOCHANOWSKI N, FANNI J, PARMENTIER M. Response surface optimisation of lipase-catalysed esterification of glycerol and n-3 polyunsaturated fatty acids from salmon oil. *Process Biochemistry* 2004 (sous presse).
- 77.** SHAHIDI F, WANASUNDARA UN. Omega-3 fatty acid concentrates : nutritional aspects and production technologies. *Trends in Food Sci Technol* 1998 ; 9 : 230-40.
- 78.** ANDO Y, OTA T, MATSUHIRA Y, YAZAWA K. Stereospecific analysis of triacyl-*sn*-glycerols in docosahexaenoic acid-rich fish oils. *J Am Oil Chem Soc* 1996 ; 73 : 483-7.
- 79.** AURSAND M, MABON F, MARTIN GJ. Characterization of farmed and wild salmon (*Salmo salar*) by a combined use of compositional and isotopic analyses. *J Am Oil Chem Soc* 2000 ; 77 : 659-66.
- 80.** SÉBÉDIO JL, RATNAYAKE WMN, ACKMAN RG. Stability of polyunsaturated omega-3 fatty acids during deep fat frying of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus* L.) *Food Research Inter* 1993 ; 26 : 163-72.
- 81.** ALASALVAR C, TAYLO, KDA., ZUBCOV E, SHAHIDI F, ALEXIS M. Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) : total lipid content, fatty acid and trace mineral composition. *Food Chemistry* 2002 ; 79 : 145-50.

Illustrations

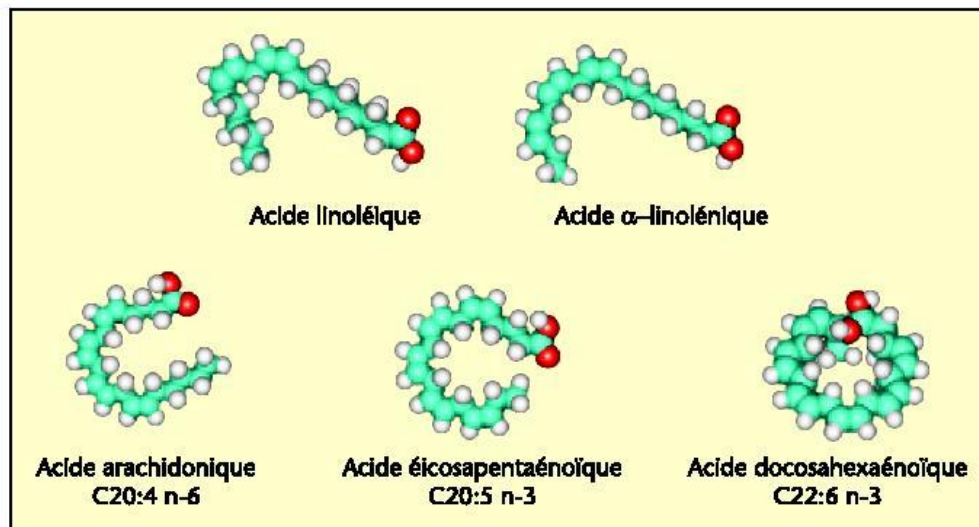


Figure 1. Acides gras polyinsaturés à longues chaînes.

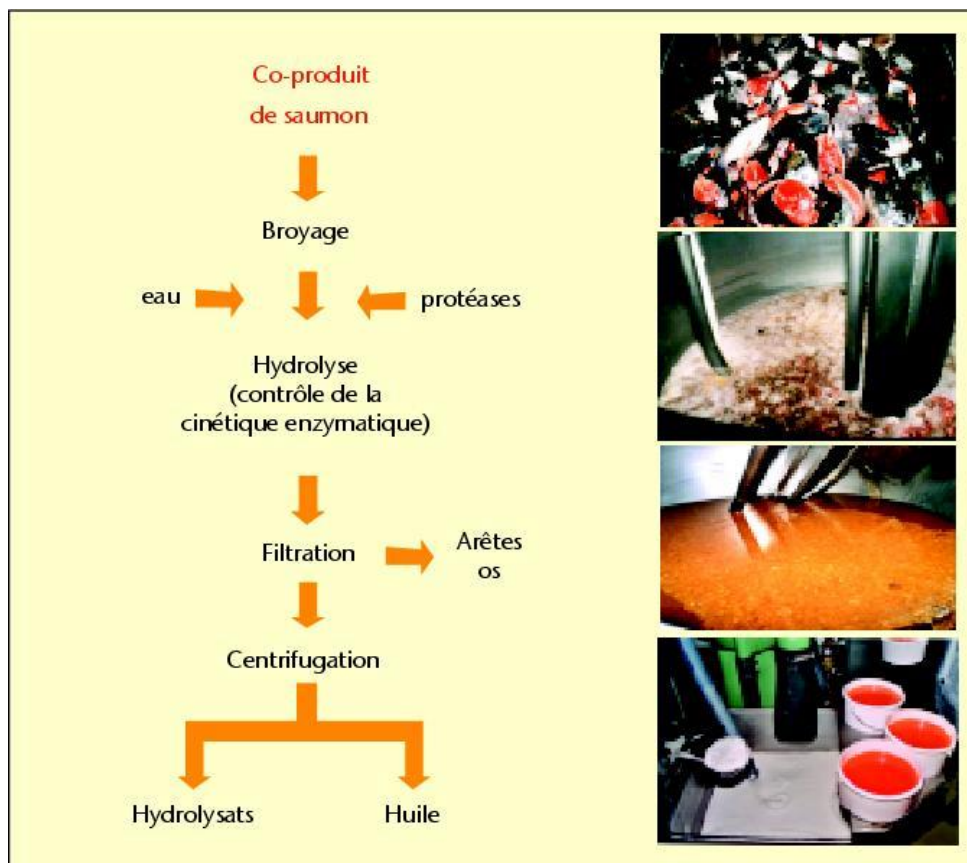


Figure 2. Procédé d'extraction d'huile de co-produits de saumon par voie enzymatique et obtention d'hydrolysats protéiques.

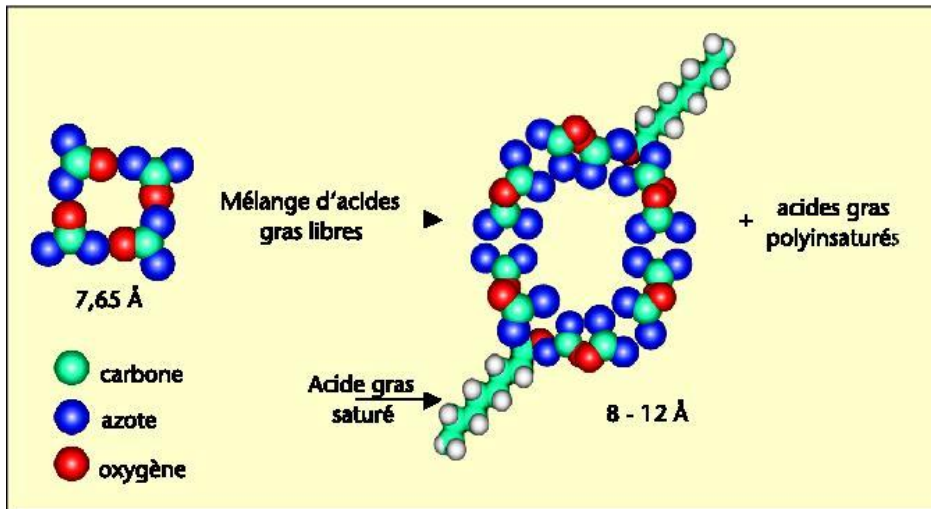


Figure 3. Formation des cristaux d'urée en l'absence et en présence d'acides gras polyinsaturés [77].

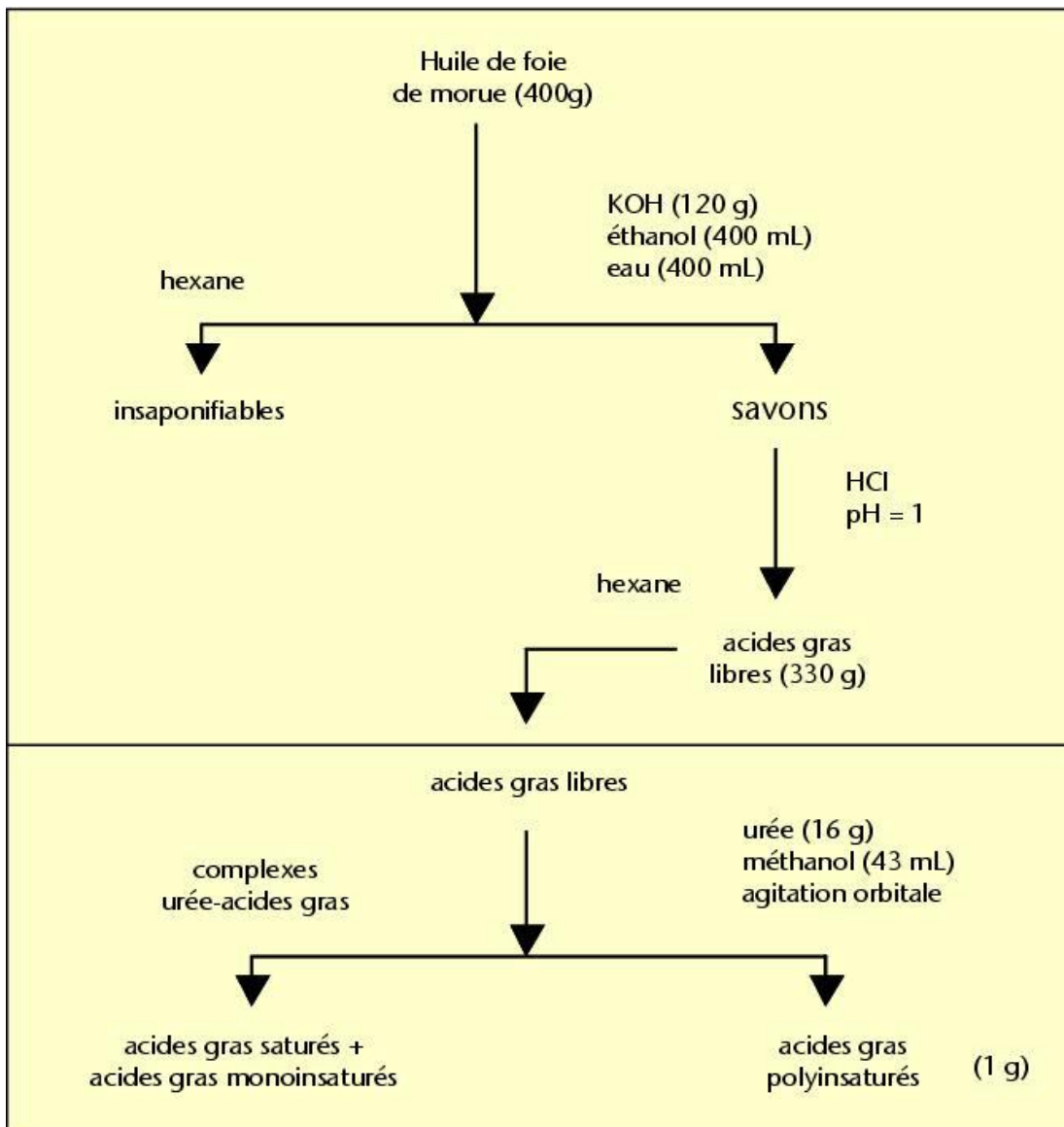


Figure 4. Procédé de concentration d'AGPI n-3 à partir d'huile de foie de morue [48].



Figure 5. *Perméat et rétentat d'huile de saumon après hydrolyse enzymatique et filtration membranaire.*