

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle

Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
8 juillet 2010 (08.07.2010)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 2010/076487 A2

(51) Classification internationale des brevets :

*B01D 11/04* (2006.01)    *C11B 13/00* (2006.01)  
*C11B 1/10* (2006.01)    *C11C 3/00* (2006.01)  
*C11B 3/00* (2006.01)    *C11C 1/00* (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2009/052547

(22) Date de dépôt international :

15 décembre 2009 (15.12.2009)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

08 58582    15 décembre 2008 (15.12.2008)    FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) :

**VALAGRO CARBONE RENOUEVELABLE**  
**POITOU-CHARENTES** [FR/FR]; 40 avenue du Recteur  
Pineau, F-86022 Poitiers (FR).

(72) Inventeur; et

(75) Inventeur/Déposant (pour US seulement) :

**PICCIRILLI, Antoine** [FR/FR]; 18 Chemin de Tison,  
F-86000 Poitiers (FR).

(74) Mandataire : **AQUINOV, CENATIEMPO, Julie**; Allée

de la Forestière, F-33750 Beychac et Caillau (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre

de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM,  
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,

CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,  
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,  
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,  
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,  
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,  
NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD,  
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT,  
TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre

de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,  
ZW), eurasienn (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,  
TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,  
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,  
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM,  
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,  
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

— relative au droit du déposant de demander et d'obtenir un brevet (règle 4.17.ii)

— relative au droit du déposant de revendiquer la priorité de la demande antérieure (règle 4.17.iii)

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport (règle 48.2.g)

(54) Title : METHOD FOR EXTRACTING A MINOR COMPOUND FROM A FAT, IN PARTICULAR FROM A VEGETABLE OR ANIMAL OIL OR FROM BY-PRODUCTS THEREOF, USING TERPENE

(54) Titre : PROCEDE D'EXTRACTION D'UN COMPOSE MINEUR D'UN CORPS GRAS, NOTAMMENT D'UNE HUILE VEGETALE OU ANIMALE OU DE LEURS CO-PRODUITS AU MOYEN DE TERPENE

(57) Abstract : The invention relates to the use of limonene, myrcene or  $\Delta^3$  carene in the extraction of at least one minor compound from a fat or unsaponifiable body. The invention specifically relates to a method for extracting at least one minor compound from a fat, in particular a vegetable or mineral oil or a by-product resulting from the treatment or transformation of a fat, including at least one step of liquid-liquid extraction or distillation, and/or fractionated crystallisation, characterised in that said at least one step of liquid-liquid extraction or distillation and/or fractionated crystallisation is performed in the presence of at least one terpene. The invention also relates to the resulting minor fat compounds as well as to the cosmetic and pharmaceutical compositions and/or food supplements containing said compounds.

(57) Abrégé : L'objet de l'invention est l'utilisation du limonène, du myrcène ou du  $\Delta^3$  carène pour extraire au moins un composé mineur d'un corps gras ou insaponifiable. L'invention vise en particulier un procédé d'extraction d'au moins un composé mineur d'un corps gras, notamment d'une huile végétale ou minérale ou d'un co-produit issu du traitement ou de la transformation d'un corps gras, comprenant au moins une étape d'extraction liquide-liquide ou de distillation, et/ou de cristallisation fractionnée, caractérisé en ce que ladite au moins une étape d'extraction liquide-liquide ou de distillation, et/ou de cristallisation fractionnée est réalisée en présence d'au moins un terpène. L'invention concerne également les composés mineurs de corps gras obtenus ainsi que les compositions cosmétiques, pharmaceutiques et/ou compléments alimentaires les contenant.

WO 2010/076487 A2

**PROCEDE D'EXTRACTION D'UN COMPOSE MINEUR D'UN CORPS GRAS,  
NOTAMMENT D'UNE HUILE VEGETALE OU ANIMALE OU DE LEURS CO-  
PRODUITS AU MOYEN DE TERPENE**

La présente invention se rapporte à un procédé d'extraction d'un composé mineur d'un corps gras notamment d'une huile végétale ou animale ou de leurs co-produits.

L'invention concerne également les composés mineurs de corps gras obtenus ainsi que les compositions cosmétiques, pharmaceutiques et/ou compléments alimentaires les contenant.

Par définition, on entend par un composé mineur d'un corps gras, un composé de la fraction qui, après saponification totale dudit corps gras, c'est-à-dire sous l'action prolongée d'une base alcaline, demeure insoluble dans l'eau et soluble dans un solvant organique.

Les composés mineurs des huiles végétales appartiennent généralement aux groupes suivants :

- les hydrocarbures saturés ou insaturés,
- les stérols,
- 15 - les alcools aliphatiques et terpéniques,
- les tocophérols et tocotriénols,
- les pigments caroténoïdes et xanthophyles.

De manière connue, pour extraire des composés mineurs des huiles végétales, on effectue une première étape de saponification du corps gras puis une autre étape d'extraction des composés mineurs dudit corps gras à l'aide d'un solvant d'extraction de type organique.

Les solvants les plus utilisés sont des solvants chlorés (dichlorométhane, dichloroéthane,...) et des alcanes issus de coupes d'hydrocarbures (hexane, heptane,...). On peut également utiliser des alcools, pour purifier des fractions de composés mineurs d'huiles végétales polaires tels que les stérols.

- 5 Pour extraire et purifier des fractions de composés mineurs des huiles végétales telles que par exemple des caroténoïdes, il est possible d'utiliser des cétones ou des esters.

A titre d'exemple, on peut citer le document US-7.214.394 qui décrit une méthode de traitement des résidus issus du raffinage de l'huile de soja en vue  
10 d'extraire des polycosanols comprenant une étape d'extraction liquide-liquide à l'aide d'un solvant choisi parmi le toluène, l'heptane, l'acétone, l'éthanol, le chloroforme, la butanone, le propanol, l'acétate d'éthyle.

L'utilisation des solvants précédemment cités présente des inconvénients.

Ils sont généralement toxiques pour l'homme ou l'animal et polluants pour  
15 l'environnement. Ainsi, certains solvants chlorés sont reconnus cancérigènes et mutagènes. Les solvants chlorés et les alcanes ont un impact sur l'effet de serre. Ils sont quasi exclusivement d'origine pétrochimique, ce qui accroît encore leur impact négatif sur l'environnement.

Au plan industriel, ils nécessitent des installations particulières avec, par  
20 exemple, des zones antidéflagrantes en raison de leur grande inflammabilité liée en partie à leur volatilité. C'est le cas notamment des alcools, des alcanes, des cétones.

Selon un autre inconvénient, ils sont parfois instables en milieu basique et génèrent des sous-produits indésirables et des pertes importantes de solvant.

25 De plus, leur purification et leur recyclage ultérieur sont souvent complexes, ces solvants ayant tendance à former des mélanges azéotropiques complexes avec les co-réactifs de la saponification que sont l'eau et l'alcool.

Enfin, compte tenu de leur plus ou moins grande affinité avec l'eau, ils sont à l'origine de la formation d'émulsions stables au cours des procédés d'extraction liquide-liquide ou de lavage à l'eau, il est nécessaire d'arrêter de manière intempestive les unités de production ou d'ajouter des intrants chimiques pour  
5 casser ces émulsions stables.

Pour éviter l'utilisation de tels solvants, le document US-5.512.691 propose une méthode de traitement des échappées de désodorisation des huiles végétales en vue d'obtenir des fractions enrichies en tocophérols grâce à une suite de distillations sous vide poussé et à des températures élevées. Cependant, cette  
10 méthode ne donne pas satisfaction en raison d'une consommation énergétique très élevée. De plus, cette suite de distillations conduit à des fractions non purifiées en tocophérols cibles.

Le document Mendès & coll. « journal of supercritical fluids 23 (2002) pages 257 à 265 » décrit une méthode d'extraction directe de la vitamine E des déodistillats d'huile de soja à l'aide d'un fluide supercritique. Compte tenu des  
15 coûts d'investissement très élevés pour la mise en œuvre d'un tel procédé, il est réservé à des molécules à très haute valeur ajoutée.

Le document WO-2007/05475 décrit une méthode de traitement des déodistillats d'huile végétale en vue d'extraire les stérols et comprend les étapes  
20 suivantes consistant à :

- réaliser une estérification par ajout d'une solution méthanolique d'acide sulfurique,
- chauffer le mélange à 85°C,
- distiller l'excès de méthanol,
- 25 - laver à l'eau afin de neutraliser le milieu avant la cristallisation à basse température des stérols.

Cette méthode a pour inconvénient l'utilisation à chaud d'acide corrosif et nécessite par conséquent d'utiliser des matériaux spéciaux résistants aux pH

acides ce qui conduit à des installations coûteuses. Selon un autre inconvénient, cette méthode peut entraîner la formation de stérènes (produits de déshydratation des stérols) qui constituent des impuretés indésirables pour les phytostérols destinés à l'homme.

- 5 Aussi, la présente invention vise à pallier aux inconvénients de l'art antérieur en proposant une solution pour extraire au moins un composé mineur d'un corps gras, dont la mise en œuvre est économique et ne nécessite pas d'installations particulières, non toxique pour l'homme, ayant un faible impact sur l'environnement, stable en milieu basique, limitant l'apparition d'émulsions stables.
- 10 A cet effet, l'invention a pour objet l'utilisation du limonène, du myrcène ou du  $\Delta^3$  carène pour extraire au moins un composé mineur d'un corps gras.

L'invention a pour objet spécifique un procédé d'extraction d'au moins un composé mineur d'un corps gras, notamment d'une huile végétale ou animale ou d'un co-

15 produit issu d'un traitement ou d'une transformation d'une huile végétale ou animale en utilisant comme solvant au moins le limonène, le myrcène ou le  $\Delta^3$  carène.

En particulier l'invention vise un procédé d'extraction d'au moins un composé mineur d'un corps gras, comprenant au moins :

- une étape d'extraction liquide-liquide, et/ou
- 20 - une étape de cristallisation fractionnée,

réalisée(s) en présence d'au moins un limonène, un myrcène ou du  $\Delta^3$  carène.

L'invention a également pour objet les composés mineurs de corps gras obtenus, qui ne contiennent aucune trace de solvant toxique résiduel, ainsi que les compositions cosmétiques, pharmaceutiques et/ou compléments alimentaires les

25 contenant.

Le limonène, le myrcène et le  $\Delta^3$  carène sont trois composés organiques appartenant à la famille des terpènes. Ces trois composés organiques particuliers présentent des caractéristiques communes et d'excellentes propriétés en tant

que solvant de composés mineurs de corps gras. Préférentiellement, on choisira le limonène.

Avantageusement, ces produits peuvent être issus directement de bioressources.

Selon l'invention, le limonène, le myrcène et le  $\Delta^3$  carène peuvent être utilisés  
5 seuls, en mélange entre eux ou en présence d'un ou plusieurs autres co-solvants non toxiques.

Les matières premières concernées par l'invention sont de manière non exhaustive les huiles végétales, les co-produits issus d'un traitement ou d'une transformation d'une huile végétale comme les échappées de désodorisation,  
10 appelées également déodistillats, issues des unités de raffinage ou d'hydrolyse ou de transestérification des huiles végétales, les huiles de résineux (tall oil), les cires contenant des résidus lipidiques, des corps gras d'origine animale, des lipides extraits d'algues, des lipides issus de micro-organismes.

Parmi les huiles végétales et les déodistillats d'huiles végétales, on peut citer de  
15 manière non exhaustive les huiles de colza, de palme, de palmiste, de soja, de tournesol, de coton, de germe de blé, de germe de maïs, de son de riz, de pépin de raisin, de noix, de noisette, de lupin, de cameline, de lin, de carthame, d'olive, de coco, de coprah, d'arachide, de jatropha, de ricin, de neem, de chanvre, de cuphée, de lesquerella, d'inca inchi, de perilla, d'echium, d'onagre, de bourrache,  
20 de cassis, de pin de corée.

De préférence, parmi les huiles végétales, on choisira l'huile d'avocat issus de fruits déshydratés et chauffés riche en composés furanniques et polyols gras, l'huile de sésame, l'huile de karité, l'huile d'amarante, l'huile de café ou l'huile d'avoine.

25 Parmi les déodistillats, on choisira ceux issus des unités de raffinage ou d'hydrolyse ou de transestérification d'huiles de palme, de tournesol, de colza, de soja, d'olive, de sésame, de coton, de son de riz et de leurs mélanges.

Parmi les corps gras d'origine animale, on choisira de préférence les corps gras issus de foie et de peau de poisson tout particulièrement celles de requin, de morue et de chimère.

Parmi les oléorésines, on choisira de préférence celles de tagète, de tomate ou  
5 de paprika.

L'invention est également particulièrement adaptée à la purification des cires contenant des résidus lipidiques.

Pour la suite de la description, on entend par un corps gras, tout produit contenant au moins un corps gras, à savoir une huile végétale, une huile  
10 concentrée en insaponifiables, un co-produit issu du traitement ou de la transformation d'un corps gras comme un déodistillat issu des unités de raffinage ou d'hydrolyse ou de transestérification des huiles végétales, une huile de résineux, une cire contenant des résidus lipidiques, un corps gras d'origine animale, des lipides extraits d'algues, des lipides issus de micro-organismes ou un  
15 mélange de corps gras précités.

Selon un premier mode opératoire de l'invention, un procédé d'extraction d'au moins un composé mineur d'un corps gras consiste à réaliser une extraction liquide-liquide en présence d'au moins un terpène choisi parmi le limonène, le myrcène ou le  $\Delta^3$  carène et comprend les étapes suivantes :

- 20 - une mise en solution hydro-alcoolique d'un corps gras notamment par une technique choisie parmi la saponification, l'hydrolyse acide et la transestérification, de préférence la saponification,
- une extraction liquide-liquide en présence d'au moins un limonène, myrcène ou  $\Delta^3$  carène de la phase hydro-alcoolique au cours de laquelle la phase  
25 aqueuse hydro-alcoolique est séparée du ou des composé(s) mineur(s), et
- une purification du ou des composé(s) mineur(s).

L'étape de saponification a pour but de transformer les glycérides et les acides gras libres en savons hydrosolubles, les composés insaponifiables demeurant quant à eux insolubles dans l'eau.

La purification du ou des composé(s) mineur(s) peut comprendre au moins une  
5 étape choisie parmi le groupe constitué par la centrifugation, la neutralisation, le lavage à l'eau, la distillation (distillation sous vide ou distillation azéotropique), la désodorisation sous vide, la cristallisation fractionnée.

La purification de l'insaponifiable peut être réalisée de différentes manières selon le degré de pureté de l'insaponifiable que l'on souhaite atteindre.

10 De préférence, la purification comprend les étapes suivantes :

- une centrifugation de la phase organique,
- un lavage à l'eau de la phase organique jusqu'à neutralité, afin d'en extraire les savons résiduels et neutraliser la phase solvant,
- une distillation de l'excès de solvant terpénique, appelée désolvantation, et  
15 récupération de l'insaponifiable,
- une désodorisation sous vide poussée du ou des composé(s) mineur(s) par injection de vapeur d'eau ou de gaz inerte afin d'extraire les dernières traces de solvant terpénique et de contaminants tels que par exemple les pesticides et les hydrocarbures aromatiques polycycliques.

20 Selon une première variante pour l'étape de désolvantation, on peut mettre en œuvre une distillation sous vide à l'aide d'un évaporateur à flot tombant ou à film raclé.

Selon une deuxième variante, on peut mettre en œuvre une hydrodistillation, entraînant à la vapeur d'eau, qui est une technique particulièrement adaptée à  
25 l'extraction des terpènes.

Selon une autre variante, on peut mettre en œuvre une distillation azéotropique en présence d'un solvant formant avec le terpène un mélange azéotrope dont le point d'ébullition est inférieur à celui dudit terpène.

Selon un autre mode opératoire de l'invention, un procédé d'extraction d'au moins un composé mineur d'un corps gras consiste à réaliser une cristallisation fractionnée en présence d'au moins un terpène et comprend les étapes suivantes :

- 5 - une mise en solution sous agitation constante dans au moins un limonène, myrcène ou du  $\Delta^3$  carène, de préférence à une température comprise entre 25 et 120°C,
- une cristallisation à froid de la solution, de préférence à une température comprise entre -50°C et 15°C,
- 10 - une séparation de la phase liquide et de la phase solide par exemple par une centrifugation et/ou une filtration,
- un traitement de la phase liquide par distillation et/ou par extraction liquide-liquide afin de séparer le ou les composé(s) mineur(s) et le terpène et extraire les dernières traces de terpène et de contaminants tels que par exemple les pesticides, les hydrocarbures aromatiques polycycliques,
- 15 - un traitement de la phase solide par un lavage à l'aide d'un solvant organique et/ou par distillation afin de séparer le ou les composé(s) mineur(s) et le terpène et d'extraire les dernières traces de terpène et de contaminants tels que par exemple les pesticides, les hydrocarbures aromatiques polycycliques.

20 Les phases de distillation ne sont pas plus détaillées car elles sont connues de l'homme du métier. A titre d'exemple, on peut citer la distillation à pression atmosphérique, sous vide poussé, multi-étagée, l'hydrodistillation, la désodorisation en présence de vapeur d'eau ou d'un gaz inerte.

Le deuxième mode opératoire comprenant une étape de cristallisation  
25 fractionnée peut être une alternative au premier mode opératoire ou venir en un complément dudit premier mode opératoire et constituer une étape de purification. Selon une autre variante, le premier mode opératoire peut être complément du deuxième mode opératoire. Dans tous les cas, le procédé

d'extraction selon l'invention comprend au moins une étape d'extraction liquide-liquide, une distillation et/ou de cristallisation fractionnée en présence d'au moins un terpène.

Le procédé selon l'invention permet d'obtenir des composés mineurs qui ne  
5 présentent pas de traces de solvants pétrochimiques éventuellement toxiques.

De manière non exhaustive, les composés mineurs obtenus selon l'invention sont les stérols, les tocophérols, les tocotriénols, le squalène, les polycosanols, les alcools triterpéniques, les polyols gras et composés furanniques de l'avocat, la sésamine, la sésamoline, le bêta-carotène, le lycopène, la lutéine, l'asthaxanthine,  
10 le co-enzyme Q10, le calciférol, le cholecalciférol, les alkylglycérols, les limonoïdes, l'azadirachtine.

Le procédé de l'invention est plus particulièrement adapté pour extraire les stérols, les tocophérols, les tocotriénols, le squalène, les alcools triterpéniques, les polyols gras et composés furanniques de l'avocat, la sésamine et la sésamoline.

15 Le procédé selon l'invention, notamment le procédé comprenant la cristallisation fractionnée, est également particulièrement adapté pour extraire une cire purifié sans résidus lipidiques, d'une cire mélangée avec des résidus lipidiques.

La présente invention a également pour objet les composés mineurs de corps gras ou leurs fractions purifiées, obtenus selon le procédé de l'invention. Ces  
20 composés ne présentent pas de traces de solvants pétrochimiques. Ils se distinguent en cela des composés mineurs de corps gras extraits avec les techniques de l'art antérieur. En effet, avantageusement les 3 composés organiques particuliers utilisés selon l'invention présentent un profil toxicologique dénotant l'absence de toxicité. L'absence de traces de solvants  
25 toxiques pétrochimiques peut être confirmée par chromatographie en phase gazeuse dite de l'espace de tête couplée à la spectrométrie de masse, qui permet de déterminer la nature du solvant utilisé ainsi que sa concentration résiduelle dans le composé mineur.

Les composés mineurs de corps gras extraits selon l'invention peuvent ainsi notamment être utilisés dans des compositions cosmétiques, médicamenteuses et/ou dans des compléments ou additifs alimentaires.

La présente invention a donc également pour objets une composition cosmétique  
5 comprenant au moins un composé mineur de corps gras ou sa fraction purifiée obtenu selon le procédé de l'invention, une composition médicamenteuse comprenant au moins un composé mineur de corps gras ou sa fraction purifiée, obtenu selon le procédé de l'invention et un complément ou additif alimentaire  
10 comprenant au moins un composé mineur de corps gras ou sa fraction purifiée, obtenu selon le procédé de l'invention.

L'invention est maintenant illustrée au travers de différents exemples comparatifs.

Exemple 1 : extraction des composés mineurs d'un déodistillat d'huile végétale en  
15 présence de DCE (1,2 dichloro-éthane) comme solvant d'extraction

Dans le cadre de cet essai, il a été mis en œuvre un déodistillat d'huile végétale présentant la composition suivante :

- Total stérols : 24,9 %
- Total tocophérols : 15,1 %
- 20 - Total Hydrocarbures : 20,0 %
- Teneur en acides gras : 40,0%

1) Extraction des composés mineurs du déodistillat :

Dans un ballon de 100 ml équipé d'un réfrigérant, 10 g de ce déodistillat  
25 (masse  $m_0$ ) sont mis en présence de 24 ml de potasse alcoolique 3,7M et de quelques billes de verre. Le mélange est alors porté à reflux (95°C) pendant 4 heures. Après refroidissement, le milieu est dilué avec 35 ml d'eau déminéralisée.

L'extraction est réalisée grâce à une ampoule à décanter (500 ml). Le milieu saponifié est introduit dans l'ampoule à décanter avec 70 ml de DCE issu de l'opération de rinçage du ballon. Après décantation, la phase organique est séparée de la phase aqueuse, cette dernière étant reprise à nouveau par 70 ml  
5 de DCE. La phase aqueuse subit ainsi 4 extractions successives en présence, à chaque fois, de 70 ml de solvant.

Dans certains cas, on observe la formation d'émulsions stables qui peuvent être cassées par des ajouts d'éthanol.

Les phases organiques sont alors rassemblées puis lavées par l'ajout d'eau déminéralisée jusqu'à neutralité (contrôle au papier pH). Chaque lavage est  
10 réalisé par l'ajout de 100 ml d'eau.

Le solvant DCE est alors éliminé par distillation sous vide : à 90°C sous 300 mbar. Le résidu de distillation obtenu, constitué par les composés mineurs du déodistillat (principalement des stérols et des tocophérols) est alors pesé  
15 précisément ( $m_1$ ) puis analysé par chromatographie couche mince (CCM).

## 2) Essai à blanc :

Parallèlement, on réalise un essai à blanc identique en présence de 10 g de DCE afin de s'affranchir de l'effet solvant lequel pourrait contenir des composés  
20 mineurs pouvant fausser la teneur en composés mineurs du déodistillat d'huile végétale.

Pour cela, on procède exactement comme pour le déodistillat d'huile végétale : à une saponification des 10 g de DCE, à une dilution du milieu par l'ajout d'eau déminéralisée, à une extraction grâce à une ampoule à décanter en présence de  
25 DCE, au lavage de la phase solvant à l'eau déminéralisée jusqu'à neutralité, à une évaporation sous vide du DCE et à une pesée exacte du résidu de distillation ( $m_2$ ).

### 3) Détermination de la quantité d'acides gras libres résiduels :

On pèse précisément une quantité de composés mineurs obtenus en 1) que l'on dissout dans 4 ml d'éther diéthylique. On ajoute alors 40 ml d'éthanol neutralisé puis on titre par une solution de potasse alcoolique 1M. On détermine alors par calcul la quantité d'acides gras libres ( $m_3$ ).

### 4) Calcul de la teneur en composés mineurs :

On utilise la formule de calcul :

$$\% \text{ composés mineurs} = 100 \times [(m_1 - m_2 - m_3) / m_0]$$

10

### Exemple 2 : extraction des composés mineurs d'un déodistillat d'huile végétale en présence de d-limonène comme solvant d'extraction

Dans le cadre de cet essai, il a été mis en œuvre le même déodistillat d'huile végétale qu'utilisé à l'exemple 1.

15

### 1) Extraction des composés mineurs du déodistillat d'huile végétale :

Dans un ballon de 100 ml équipé d'un réfrigérant, 10 g de ce déodistillat (masse  $m_0$ ) sont mis en présence de 24 ml de potasse alcoolique 3,7M et de quelques billes de verre. Le mélange est alors porté à reflux (95°C) pendant 4 heures. Après refroidissement, le milieu est dilué avec 35 ml d'eau déminéralisée. Le milieu ainsi saponifié du premier ballon est alors extrait par le d-limonène.

20

L'extraction est réalisée grâce à une ampoule à décanter (500 ml). Le milieu saponifié est introduit dans l'ampoule à décanter avec 70 ml de d-limonène issu de l'opération de rinçage du ballon. Après décantation, la phase organique est séparée de la phase aqueuse, cette dernière étant reprise à nouveau par 70 ml de d-limonène. La phase aqueuse subit ainsi 4 extractions successives en présence à chaque fois de 70 ml de solvant.

25

Dans certains cas, on observe la formation d'émulsions stables qui peuvent être cassées par ajouts d'éthanol.

Les phases organiques sont alors rassemblées puis lavées par l'ajout d'eau déminéralisée jusqu'à neutralité (contrôle au papier pH). Chaque lavage est  
5 réalisé par l'ajout de 100 ml d'eau.

Le solvant d-limonène est alors éliminé par distillation sous vide, à 90°C sous 20 mbar. Le résidu de distillation obtenu, constitué par les composés mineurs du déodistillat (principalement des stérols et des tocophérols) est alors pesé précisément ( $m_1$ ) puis analysé par chromatographie couche mince (CCM).

10

## 2) Essai à blanc :

Parallèlement, on réalise un essai à blanc identique au précédent en présence de 10 g de d-limonène.

Pour cela, on procède exactement comme pour le déodistillat d'huile végétale : à  
15 une saponification des 10 g de d-limonène, à une dilution du milieu par l'ajout d'eau déminéralisée, à une extraction grâce à une ampoule à décanter en présence de d-limonène, au lavage de la phase solvant à l'eau déminéralisée jusqu'à neutralité, à une évaporation sous vide du limonène et à une pesée exacte du résidu de distillation ( $m_2$ ).

20

## 3) Détermination de la quantité d'acides gras libres résiduels :

On pèse précisément une quantité de composés mineurs obtenus en 1) que l'on dissout dans 4 ml d'éther diéthylique. On ajoute alors 40 ml d'éthanol neutralisé puis on titre par une solution de potasse alcoolique 1M. On détermine alors par  
25 calcul la quantité d'acides gras libres ( $m_3$ ).

## 4) Calcul de la teneur en composés mineurs :

On utilise la formule de calcul :

$$\% \text{ composés mineurs} = 100 \times [(m_1 - m_2 - m_3) / m_0]$$

- 5 Le tableau 1 rassemble l'ensemble des résultats obtenus à la suite des exemples 1 et 2.

Tableau 1 :

Analyse et observations	Essai à blanc en présence de DCE	Essai à blanc en présence de d-limonène	Essai d'extraction des composés mineurs du déodistillat d'huile végétale	
			DCE	d-limonène
Nombre d'ajout d'éthanol en cours d'extraction (ajouts de 20 à 100 ml)	Aucun	Aucun	4 (Q = 190 ml)	3 (Q = 60 ml)
Nombre d'ajout d'éthanol en cours de lavage à l'eau déminéralisée	Aucun	Aucun	1 (Q = 20 ml)	1 (Q = 20 ml)
% de composés mineurs extraits du déodistillat d'huile végétale	< 0.1	< 0,1	49,7	59,4
Rendement d'extraction des composés mineurs (%)	-	-	82,8	<b>99,0</b>
<b>Analyse CCM</b>				
Intensité spot stérols	-	-	+++++	+++++
Intensité spot tocophérols	-	-	+++++	+++++
Intensité spot Hydrocarbures	-	-	+++++	++++

- 10 Les résultats du tableau 1 indiquent que lorsque l'extraction est réalisée par le d-limonène la formation d'émulsions est nettement moins importante puisqu'il n'a été procédé au cours de l'extraction qu'à 3 ajouts d'éthanol pour casser

l'émulsion en présence de limonène contre 4 en présence de DCE. En outre, les quantités d'éthanol ajoutées en présence de DCE sont nettement supérieures, 190 ml contre 60 ml pour le limonène.

Concernant la capacité extractive des deux solvants, elle est nettement en  
5 faveur du limonène avec un rendement de 99% contre de l'ordre de 83% pour le DCE. Enfin au plan qualitatif, le d-limonène et le DCE, solvant de référence de l'extraction des composés mineurs des déodistillats des huiles végétales, présentent une sélectivité d'extraction identique puisque l'analyse CCM ne révèle aucune différence quant à la nature des composés extraits et de leur proportion  
10 relative.

En conclusion, l'extraction liquide-liquide en présence de d-limonène est nettement plus efficace (rendement d'extraction supérieur) et aussi plus aisée puisque aucune émulsion stable n'est formée au cours du procédé, ce qui en terme industriel est un avantage indéniable par comparaison au DCE, en présence duquel  
15 les émulsions sont très difficiles à casser.

### Exemple 3 : extraction des composés mineurs de l'huile d'avocat en présence de DCE comme solvant d'extraction

20 1) Préparation du distillat d'huile d'avocat issu de fruits traités thermiquement :  
Dans une première étape, 16,0 kg d'avocats frais de la variété « Haas » sont coupés en lamelles d'épaisseur environ égale à 5 mm, incluant la peau et les noyaux. Les noyaux sont préalablement retirés puis coupés en dés au couteau, la pulpe est également tranchée. Les avocats sont ensuite placés à l'étuve. On  
25 dispose les lamelles d'avocats dans 8 plateaux à fond plein, chaque plateau contenant l'équivalent de 2 kg d'avocats tranchés. Les plateaux sont mis dans une étuve pendant 12 heures à 100°C. Les fruits séchés sont alors rassemblés puis finement broyés. Dans une seconde étape, le broyat est extrait dans un appareil

de type soxhlet en présence d'hexane pendant 10 heures. Le miscella récupéré est alors distillé sous vide à 50 mbar et 80°C afin de récupérer l'huile d'avocat extraite à l'hexane. On récupère ainsi 824 g d'huile d'avocat et le tourteau épuisé en huile présente une teneur résiduelle de 0,1 % en lipides.

- 5 L'huile d'avocat (824 g) est alors distillée dans un évaporateur à film raclé de type KDL4 à 240°C sous un vide poussé de  $10^{-3}$  mm de mercure (débit d'huile de 100 ml/h). On obtient ainsi 477,2 g de distillat.

2) Extraction des composés mineurs du distillat d'huile d'avocat :

- 10 Dans un ballon de 100 ml équipé d'un réfrigérant, 10 g de ce distillat (masse  $m_0$ ) sont mis en présence de 24 ml de potasse alcoolique 3,7M et de quelques billes de verre. Le mélange est alors porté à reflux (95°C) pendant 4 heures. Après refroidissement, le milieu est dilué avec 35 ml d'eau déminéralisée.

- L'extraction est réalisée grâce à une ampoule à décanter (500 ml). Le milieu saponifié est introduit dans l'ampoule à décanter. Le ballon est rincé par 70 ml de DCE lesquels sont ensuite ajoutés au contenu de l'ampoule à décanter. Après agitation et décantation, la phase organique est séparée de la phase aqueuse, cette dernière étant reprise à nouveau par 70 ml de solvant d'extraction. La phase aqueuse subit ainsi 4 extractions successives en présence à chaque fois  
15  
20 de 70 ml de DCE.

Dans certains cas, on observe la formation d'émulsions stables qui peuvent être cassées par ajouts d'éthanol.

- Les phases organiques sont alors rassemblées puis lavées par l'ajout d'eau déminéralisée jusqu'à neutralité (contrôle au papier pH). Chaque lavage est  
25 réalisé par l'ajout de 100 ml d'eau.

Le DCE est alors éliminé par distillation sous vide à 90°C sous 300 mbar. Le résidu de distillation obtenu, constitué par les composés mineurs du distillat d'huile d'avocat (principalement des composés furanniques, des polyols gras et

des stérols) est alors pesé précisément ( $m_1$ ) puis analysé par chromatographie couche mince (CCM).

3) Essai à blanc :

- 5 Parallèlement, on réalise un essai à blanc identique en présence de 10 g de DCE. Pour cela, on procède exactement comme pour le distillat d'huile d'avocat : à une saponification de 10 g de DCE, à une dilution du milieu par l'ajout d'eau déminéralisée, à une extraction grâce à une ampoule à décanter en présence de DCE, au lavage de la phase solvant à l'eau déminéralisée jusqu'à neutralité, à une
- 10 évaporation sous vide du DCE et à une pesée exacte du résidu de distillation ( $m_2$ ).

4) Détermination de la quantité d'acides gras libres résiduels :

- On pèse précisément une quantité de composés mineurs d'huile d'avocat obtenus en 1) que l'on dissout dans 4 ml d'éther diéthylique. On ajoute alors 40 ml
- 15 d'éthanol neutralisé puis on titre par une solution de potasse alcoolique 1M. On détermine alors par calcul la quantité d'acides gras libres ( $m_3$ ).

5) Calcul de la teneur en composés mineurs :

On utilise la formule de calcul :

20 
$$\% \text{ composés mineurs} = 100 \times [(m_1 - m_2 - m_3) / m_0]$$

Exemple 4 : extraction des composés mineurs de l'huile d'avocat en présence de limonène comme solvant d'extraction

- 25 On utilise le distillat d'huile d'avocat préparé à l'exemple 3.

### 1) Extraction des composés mineurs du distillat d'huile d'avocat :

Dans un ballon de 100 ml équipé d'un réfrigérant, 10 g de ce distillat (masse  $m_0$ ) sont mis en présence de 24 ml de potasse alcoolique 3,7M et de quelques billes de verre. Le mélange est alors porté à reflux (95°C) pendant 4 heures. Après refroidissement, le milieu est dilué avec 35 ml d'eau déminéralisée.

L'extraction est réalisée grâce à une ampoule à décanter (500 ml). Le milieu saponifié est introduit dans l'ampoule à décanter. Le ballon est rincé par 70 ml de limonène lesquels sont ensuite ajoutés au contenu de l'ampoule à décanter. Après agitation et décantation, la phase organique est séparée de la phase aqueuse, cette dernière étant reprise à nouveau par 70 ml de solvant d'extraction. La phase aqueuse subit ainsi 4 extractions successives en présence à chaque fois de 70 ml de limonène.

Dans certains cas, on observe la formation d'émulsions stables qui peuvent être cassées par ajouts d'éthanol.

Les phases organiques sont alors rassemblées puis lavées par l'ajout d'eau déminéralisée jusqu'à neutralité (contrôle au papier pH). Chaque lavage est réalisé par l'ajout de 100 ml d'eau.

Le limonène est alors éliminé par distillation sous vide à 90°C sous 20 mbar. Le résidu de distillation obtenu, constitué par les composés mineurs du distillat d'huile d'avocat (principalement des composés furanniques, des polyols gras et des stérols) est alors pesé précisément ( $m_1$ ) puis analysé par chromatographie couche mince (CCM).

### 3) Essai à blanc :

Parallèlement, on réalise un essai à blanc identique en présence de 10 g de limonène. Pour cela on procède exactement comme pour le distillat d'huile

d'avocat : à une saponification de 10 g de limonène, à une dilution du milieu par ajout d'eau déminéralisée, à une extraction grâce à une ampoule à décanter en présence de limonène, au lavage de la phase solvant à l'eau déminéralisée jusqu'à neutralité, à une évaporation sous vide du limonène et à une pesée exacte du  
5 résidu de distillation ( $m_2$ ).

4) Détermination de la quantité d'acides gras libres résiduels :

On pèse précisément une quantité de composés mineurs d'huile d'avocat obtenus en 1) que l'on dissout dans 4 ml d'éther diéthylique. On ajoute alors 40 ml  
10 d'éthanol neutralisé puis on titre par une solution de potasse alcoolique 1M. On détermine alors par calcul la quantité d'acides gras libres ( $m_3$ ).

5) Calcul de la teneur en composés mineurs :

On utilise la formule de calcul :

15            % composés mineurs =  $100 \times [(m_1 - m_2 - m_3) / m_0]$

Le tableau 2 rassemble l'ensemble des résultats obtenus au cours des exemples 3 et 4.

Tableau 2 :

Analyse et observations	Essai à blanc en présence de DCE	Essai à blanc en présence de d-limonène	Essai d'extraction des composés mineurs de l'huile d'avocat	
			DCE	d-limonène
Nombre d'ajout d'éthanol en cours d'extraction (ajouts de 20 à 100 ml)	Aucun	Aucun	Aucun	Aucun
Nombre d'ajout d'éthanol en cours de lavage à l'eau déminéralisée	1	1	3 (Q = 60 ml)	3 (Q = 60 ml)
% de composés mineurs extraits du distillat d'huile d'avocat	< 0,1	< 0,1	5,6	6,2
<b>Analyse CCM</b>				
Intensité spot stérols	-	-	+++	+++
Intensité spot polyols gras	-	-	+++	+++
Intensité spot c. furanniques	-	-	+++++	+++++

5

Les résultats du tableau 2 indiquent que la formation d'émulsions est équivalente quelle que soit le solvant d'extraction.

Concernant la capacité extractive des deux solvants, le rendement en composés mineurs du limonène est nettement plus important que celui observé en présence de DCE, de l'ordre de + 10,7%, ce qui compte tenu de la faible teneur en composés mineurs de l'huile d'avocat (en moyenne de l'ordre de 5% de l'huile matière première), est un gain appréciable.

10

Enfin, le d-limonène et le DCE, solvant de référence de l'extraction des composés mineurs de l'huile d'avocat, présentent une sélectivité d'extraction identique puisque l'analyse CCM ne révèle aucune différence quant à la nature des composés extraits et de leur proportion relative.

5

Exemple 5 : séparation des stérols et des tocophérols d'un déodistillat d'huile végétale

L'objectif de cet essai est de récupérer par cristallisation une fraction solide enrichie en stérols et par voie de conséquence appauvrie en tocophérols.

10

Dans cette optique 10 g de déodistillat d'huile végétale (pesés précisément) utilisé dans l'exemple 1 sont dissous sous agitation dans 10 ml de limonène à 40°C. Le mélange obtenu parfaitement limpide est alors refroidi à -20°C pendant 5 heures afin de provoquer la cristallisation des stérols. Les stérols sont alors

15 récupérés par filtration sur un filtre à cloche puis rincés par 50 ml d'éthanol anhydre froid. Le précipité est alors pesé puis analysé par CCM (chromatographie sur couche mince). Le filtrat fait aussi l'objet d'une analyse CCM.

20 Le rendement en stérols est défini par la formule suivante :  $100 \times [m_1/m_0]$

Avec :

- $m_1$  = masse de précipité récupéré
- $m_0$  = masse de stérols dans le déodistillat d'huile végétale

Tableau 3 : résultats de l'extraction des stérols par cristallisation

Essai / fraction cible	Rendement en stérols (%)	Intensité des spots CCM
Déodistillat d'huile végétale Exemple 1	82,9	-
Stérols du précipité	-	+++++
Tocophérols du précipité	-	++
Hydrocarbures du précipité	-	++
Stérols du filtrat	-	++
Tocophérols du filtrat	-	+++++
Hydrocarbures du filtrat	-	++++

Les résultats du tableau 3 indiquent que le rendement en précipité est élevé (environ 83%). Par ailleurs, les analyses CCM indiquent bien que le précipité est très appauvri en tocophérols et en hydrocarbures. Les analyses du filtrat confirment la richesse de ce dernier en tocophérols et en hydrocarbures ainsi que son appauvrissement en stérols.

Ces résultats indiquent que le limonène est un excellent solvant de purification des déodistillats d'huile végétale par cristallisation sélective des stérols et qu'il permet une séparation aisée des stérols et des tocophérols.

## REVENDEICATIONS

1. Utilisation du limonène, du myrcène ou du  $\Delta^3$  carène pour extraire au moins un composé mineur d'un corps gras.

2. Procédé d'extraction d'au moins un composé mineur d'un corps gras, caractérisé en ce qu'il comprend au moins une étape d'extraction liquide-liquide et/ou de cristallisation fractionnée réalisée en présence d'au moins un terpène  
5 choisi parmi le limonène, le myrcène ou le  $\Delta^3$  carène.

3. Procédé d'extraction d'au moins un composé mineur d'un corps gras selon la revendication 2, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- une mise en solution hydro-alcoolique d'un corps gras par une technique  
10 choisie parmi la saponification, l'hydrolyse acide et la transestérification,
- une extraction liquide-liquide en présence d'au moins le terpène choisi parmi le limonène, le myrcène ou le  $\Delta^3$  carène, de la phase hydro-alcoolique au cours de laquelle la phase aqueuse hydro-alcoolique est séparée du ou des composé(s) mineur(s), et
- 15 - une purification du ou des composé(s) mineur(s).

4. Procédé d'extraction d'au moins un composé mineur d'un corps gras selon la revendication 3, caractérisé en ce que l'étape de purification comprend au moins une étape de distillation et/ou une étape de cristallisation fractionnée.

5. Procédé d'extraction d'au moins un composé mineur d'un corps gras selon  
20 la revendication 3 ou 4, caractérisé en ce que l'étape de purification comprend les étapes suivantes :

- une centrifugation de la phase organique,
- un lavage à l'eau de la phase organique jusqu'à neutralité,
- une distillation de l'excès de solvant terpénique,

- une désodorisation sous vide poussée du ou des composé(s) mineur(s) par injection de vapeur d'eau ou de gaz inerte afin d'extraire les dernières traces de solvant terpénique et de contaminants.

6. Procédé d'extraction d'au moins un composé mineur d'un corps gras selon  
5 la revendication 2, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- une mise en solution sous agitation constante dans au moins un terpène choisi parmi le limonène, le myrcène ou le  $\Delta^3$  carène,
- une cristallisation à froid de la solution,
- une séparation de la phase liquide et de la phase solide,
- 10 - un traitement de la phase liquide par distillation et/ou par extraction liquide-liquide,
- un traitement de la phase solide par un lavage à l'aide d'un solvant organique et/ou par distillation.

7. Procédé d'extraction d'au moins un composé mineur d'un corps gras selon  
15 l'une quelconque des revendications 2 à 6, caractérisé en ce que le corps gras est une huile végétale ou un mélange d'huiles végétales choisies parmi le groupe constitué d'huile d'avocat issus de fruits déshydratés et chauffés riche en composés furanniques et polyols gras, d'huile de sésame, d'huile de karité, d'huile d'amarante, d'huile de café ou d'huile d'avoine.

20 8. Procédé d'extraction d'au moins un composé mineur d'un corps gras selon l'une quelconque des revendications 2 à 6, caractérisé en ce que le corps gras est d'origine animale issu de foie et de peau de poisson.

9. Procédé d'extraction d'au moins un composé mineur d'un corps gras selon  
25 l'une quelconque des revendications 2 à 6, caractérisé en ce que le corps gras est un déodistillat issu des unités de raffinage ou d'hydrolyse ou de transestérification d'huiles de palme, de tournesol, de colza, de soja, d'olive, de sésame, de coton, de son de riz et de leurs mélanges.

10. Procédé d'extraction d'au moins un composé mineur d'un corps gras selon l'une quelconque des revendications 2 à 6, caractérisé en ce que le corps gras est une cire contenant des résidus lipidiques.

5 11. Composé mineur d'un corps gras, obtenu par la mise en œuvre du procédé selon l'une des revendications 2 à 10, caractérisé en ce qu'il ne présente aucune trace de solvants pétrochimiques.

12. Utilisation d'un composé mineur de corps gras selon la revendication 11, dans une composition cosmétique, médicamenteuse ou alimentaire.