

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication :

2 933 870

(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②① N° d'enregistrement national :

08 54908

⑤① Int Cl⁸ : **A 61 K 36/02** (2006.01), A 61 K 8/97, A 23 L 1/29,
A 23 K 1/14, C 05 F 11/00, C 10 L 1/02

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 18.07.08.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 22.01.10 Bulletin 10/03.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥③ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : CENTRE VALORISATION INDUS-
TRIEL AGRO-RESSOURCES — FR.

⑦② Inventeur(s) : PICCIRILLI ANTOINE.

⑦③ Titulaire(s) : CENTRE VALORISATION INDUSTRIEL
AGRO-RESSOURCES.

⑦④ Mandataire(s) : AQUINOV.

⑤④ PROCÉDE D'OBTENTION D'EXTRAITS D'ALGUE ET UTILISATION DE CES EXTRAITS.

⑤⑦ L'objet de l'invention est un procédé d'obtention d'ex-
traits d'algue, caractérisé en ce qu'il comprend au moins les
étapes suivantes:

- a) prétraitement d'un échantillon algal,
- b) chauffage rapide,
- c) application d'une pression supérieure ou égale à 1
bar,
- d) détente instantanée à une pression inférieure ou éga-
le à 1 bar, et
- e) récupération des produits obtenus en d) sous forme
liquide, solide et/ou gazeux.

L'invention couvre aussi l'utilisation des produits extraits
d'algue obtenus par la mise en oeuvre de ce procédé.

FR 2 933 870 - A1



PROCEDE D'OBTENTION D'EXTRAITS D'ALGUE ET UTILISATION DE CES EXTRAITS

La présente invention concerne un procédé de traitement d'algues ainsi que l'utilisation des extraits obtenus par la mise en œuvre de ce procédé.

Les algues sont des êtres vivants produits par photosynthèse dont le cycle de vie se déroule en milieu aquatique. Elles présentent toutes des caractéristiques communes qui permettent de les identifier et de les différencier des végétaux terrestres, mais il en existe de nombreuses espèces.

Les algues aquatiques sont généralement classées en deux grandes familles : les organismes procaryotes et les organismes eucaryotes. Elles peuvent également être classées en trois catégories : les macroalgues, les microalgues et les diatomées.

Les cellules d'algues peuvent être nues ou bien couvertes d'une paroi complète et rigide, d'une paroi incomplète ou d'une série d'écailles, de plaques ou de bandes. La paroi est constituée de deux éléments : un constituant amorphe, qui forme la matrice, dans lequel est incrusté un constituant fibrillaire. Le constituant amorphe est principalement composé de saccharides, tandis que le constituant fibrillaire, qui forme la structure rigide de la paroi cellulaire, est généralement composé de cellulose.

Les algues sont connues et utilisées pour des propriétés diverses dans différents domaines tels que l'alimentation humaine ou animale, l'agriculture, la pharmacologie, la cosmétologie, etc. Le choix de l'algue se fait en fonction des propriétés ou des molécules recherchées et des secteurs d'application envisagés.

Certaines algues riches en iode et en fibres sont utilisées dans les compléments alimentaires amincissants. D'autres possèdent des propriétés organoleptiques intéressantes et sont utilisées dans des produits alimentaires.

On sait également que les algues renferment de nombreux composés connus pour leur effet bénéfique pour la santé.

Les algues sont aussi depuis peu proposées comme source d'énergies renouvelables (A look back at the US Department of energy's Aquatic Species Program - Biodiesel from algae - 238 pages - 1998 et Widescale Biodiesel Production from Algae - Michael BRIGGS - Août 2004). Certaines espèces d'algues sont en effet plus productrices de biomasse que les céréales et oléagineux terrestres. Elles peuvent produire des lipides, sources d'esters gras agrocarburants, et/ou des glucides sources de bioéthanol pour les essences. Elles présentent par ailleurs l'avantage de ne pas concurrencer au plan commercial et agricole, les oléagineux et les céréales alimentaires.

C'est pourquoi on cherche des procédés permettant d'extraire des molécules à partir de la biomasse algale, en particulier les fractions protéiques, polysaccharidiques, lipidiques mais également d'autres constituants mineurs valorisables tels que des polyphénols, des vitamines, les caroténoïdes, etc...

Toutefois, l'extraction des molécules de la biomasse algale est difficile et coûteuse à mettre en œuvre et ce pour plusieurs raisons.

En effet, les algues étant des organismes fortement hydratés, les procédés d'extraction actuels impliquent le plus souvent une étape de séchage de la biomasse algale, opération qui demande beaucoup d'énergie et qui est a fortiori très onéreuse.

En outre, la constitution unicellulaire des algues nécessite une étape de rupture de la paroi cellulaire pour libérer les différentes fractions qui les constituent. Or, cette étape est difficile à mettre en œuvre d'une part par la résistance intrinsèque élevée de la membrane cellulaire aux stress imposés sous forme de

choc osmotique, température, micro-ondes et/ou solvant chimique, et d'autre part par les mécanismes de défense que l'algue organisme vivant met en œuvre en réponse à ces stress, comme la synthèse de macrosucres, la rigidification membranaire, etc.

- 5 Enfin les algues présentent une composition chimique et biochimique très complexe. Les différentes familles de composés des algues sont en intime interaction physique et chimique et la libération de ces composés, consécutive à la rupture de la membrane cellulaire, ainsi que leur séparation ultérieure conduit à la formation de gels ou d'émulsions stables qui complexifient leur purification.
- 10 Par ailleurs, les procédés existants nécessitent l'utilisation de solvants toxiques ou de composés d'origine fossile néfastes pour l'environnement. On peut citer à titre d'exemple la demande US-5,951,875 qui décrit une méthode de traitement des algues pour extraire des caroténoïdes, qui utilise un gaz dissous et un solvant chimique. On connaît également la demande GB-319333 relative à un procédé
- 15 d'extraction de pigments, de sels et de corps gras des algues qui met en œuvre des solvants pétrochimiques inflammables sous pression.

Ces différentes contraintes rendent les procédés d'obtention d'extraits algaux actuels peu efficaces, non rentables et difficilement industrialisables.

- C'est pourquoi l'objectif de la présente invention est de pallier aux inconvénients
- 20 de l'art antérieur en proposant un procédé de traitement d'algues efficace, qui permet de récupérer tous les produits valorisables, qui n'utilise pas de solvant toxique, qui prévient les risques d'oxydation ou de dénaturation des composés cibles et qui peut être mis en œuvre à l'échelle industrielle.

- A cet effet l'invention vise un procédé d'obtention d'extraits d'algue,
- 25 comprenant au moins les étapes suivantes :

- a) prétraitement d'un échantillon algal,
- b) chauffage rapide de l'échantillon algal prétraité,

- c) application d'une pression supérieure ou égale à 1 bar au produit obtenu en b),
- d) détente instantanée à une pression inférieure ou égale à 1 bar, et
- e) récupération des produits obtenus en d) sous forme liquide, solide et/ou gazeux.

5

Les extraits obtenus peuvent être utilisés dans différents domaines en fonction de la nature de l'échantillon algal traité et de la nature des produits récupérés. Ils peuvent par exemple être utilisés dans des produits pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires, dans des produits agricoles ou aquacoles ou encore pour produire de l'énergie.

10

L'invention est maintenant décrite en détails.

La présente invention vise donc un procédé de traitement d'un échantillon algal comprenant au moins les étapes suivantes :

- a) prétraitement,
- b) chauffage rapide,
- c) application d'une pression supérieure ou égale à 1 bar au produit obtenu en b),
- d) détente instantanée à une pression inférieure ou égale à 1 bar, et
- e) récupération des produits obtenus en d) sous forme liquide, solide et/ou gazeux.

15

20

Par échantillon algal on entend une ou plusieurs algue(s) ou un ou plusieurs produit(s) dérivé(s) d'algue (déchets ou co-produits d'algues), les algues étant issues indifféremment d'un milieu aquatique (mers, rejets d'origine marine, lagons, lacs, étangs, rivières, etc.), de bassins de culture ou de photobioréacteurs de culture algale.

25

Préférentiellement il s'agit de microalgues ou de diatomées. Encore plus préférentiellement il s'agit d'algues appartenant à la famille des Chlorophyceae, des Cyanophyceae ou des Chrysophyceae.

Encore plus préférentiellement, les algues utilisées sont choisies parmi : *Chlorella*, *Botryococcus braunii*, *Dunaliella salina*, *Haematococcus pluvialis*, *Scenedesmus*, *Odontella aurita*, *Chondrus crispus*, *Porphyridium cruentum*, *Spirulina platensis*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Isochrysis* sp., *Nitzschia* sp.,

5 *Phaeodactylum tricornutum*, *Tretraselmis sueica*.

Selon un mode de réalisation, l'échantillon algal est une biomasse algale hydratée. L'étape a) de pré-traitement consiste alors à centrifuger l'échantillon pour éliminer en partie l'excès d'eau.

Selon un autre mode de réalisation, l'échantillon algal est une biomasse qui a été
10 préalablement séchée et/ou lyophilisée. Dans ce cas, l'étape a) de pré-traitement consiste à injecter de la vapeur sèche surchauffée ou humide dans la biomasse à traiter.

La température de chauffage à l'étape b) est préférentiellement comprise entre 25 et 150°C, encore plus préférentiellement entre 60 et 110°C. Par
15 chauffage rapide on entend un chauffage réalisé entre 0,5 et 30 minutes.

De façon préférée la pression de chauffage à l'étape c) est comprise entre 1 et 50 bars, en particulier entre 2 et 10 bars. La pression est appliquée pendant un temps compris entre 1 et 60 minutes.

De même le vide de dépression à l'étape d) est compris entre 0,01 et 1000 mbar,
20 de préférence entre 1 et 100 mbar.

Le procédé selon l'invention peut également comprendre une étape qui consiste à ajouter à la biomasse avant l'étape b) de chauffage, une solution saline.

Les étapes b) de chauffage, c) de mise sous pression et d) de dépression, peuvent être répétées plusieurs fois successivement dans le but d'augmenter
25 encore l'efficacité du procédé.

Lorsque le procédé selon l'invention est mis en œuvre, sous l'effet conjugué de la température initiale de chauffage et de la détente instantanée, l'eau intracellulaire contenue dans les cellules de la biomasse algale traitée est

vaporisée provoquant une augmentation drastique de la pression osmotique avec pour conséquence immédiate la rupture des cellules. La ou les algue(s) sont alors splittées en différentes fractions :

- une fraction solide contenant des protéines, des polysaccharides et des fibres insolubles (cellulose, amidon, alginat, etc.),
- une fraction liquide contenant des lipides et de l'eau résiduelle, et
- une fraction gazeuse qui comprend des composés volatils et des vapeurs d'eau condensables.

L'étape e) du procédé selon l'invention consiste à récupérer ces différentes fractions.

Les produits gazeux obtenus peuvent être récupérés par condensation à froid. Ils peuvent ensuite être utilisés tels quels ou après traitement notamment par purification.

En outre l'eau récupérée peut avantageusement être réutilisée dans le procédé selon l'invention pour la production de vapeur.

Les produits liquides et solides obtenus sont séparés préférentiellement par centrifugation et/ou filtration et sont séchés si nécessaire.

La fraction liquide récupérée, ou jus, a une composition différente en fonction de la nature de l'échantillon d'algue traité. Elle peut être plus ou moins riche en lipides, en sucres ou en tout autre composé tels que des pigments, des caroténoïdes, des polyphénols dissous, des vitamines, etc. Les produits liquides obtenus à l'étape e) sont donc généralement traités selon des techniques connues pour séparer les différents composés qui les constituent.

La fraction solide récupérée après filtration est plus ou moins riche en protéines, en polysaccharides et en fibres et polyphénols insolubles. Elle peut également être traitée par la mise en œuvre de techniques connues afin de séparer les composés qui la constitue.

Le procédé selon l'invention permet donc de récupérer toutes les substances valorisables contenues dans l'échantillon d'algue traité.

Les extraits récupérés obtenus selon l'invention peuvent être utilisés notamment comme carburants pour produire de l'énergie (bioéthanol ou production d'esters gras éco-carburants), comme fertilisants pour l'agriculture, comme nutriments pour l'aquaculture, ou encore dans l'alimentation humaine ou animale, la pharmacologie ou la cosmétique.

Avantageusement le procédé d'obtention de produits extraits d'algue selon l'invention ne nécessite pas de séchage préalable de l'échantillon algal avant extraction des substances cibles.

Il ne nécessite pas non plus l'utilisation de solvant toxique ou de composé d'origine fossile et garde intact les substances algales en prévenant notamment les risques d'oxydation ou de dénaturation des produits à extraire.

En outre le procédé selon l'invention ne produit pas d'effluents, une majeure partie des intrants et des co-produits utilisés étant recyclables.

Selon un autre avantage, le procédé peut être mis en œuvre à l'échelle industrielle de façon semi-continue.

L'invention peut être illustrée par un exemple non limitatif de procédé d'obtention de produits extraits d'algue à partir de *Chlorella Vulgaris*.

Etape a) : Un échantillon de microalgues de l'espèce *Chlorella Vulgaris* est centrifugé afin d'obtenir une biomasse présentant environ 20% de matière sèche.

En parallèle de la mise en œuvre du procédé selon l'invention, une partie de la biomasse centrifugée est lyophilisée afin de déterminer sa composition élémentaire, représentée dans le tableau ci-dessous :

Fraction	% en poids
Protéines	51
Lipides	12,5
Glucides	15,5
Minéraux	7,5
Fibres insolubles	7
Eau	6,5

On constate que les fractions majoritaires de l'algue *Chlorella Vulgaris* sont les protéines, les glucides et les lipides.

- 5 Etape b) : Dans un réacteur autoclave équipé d'une couverture chauffante et d'un agitateur, on place 500g d'échantillon de *Chlorella Vulgaris* centrifugé titrant environ 20% de matière sèche. L'enceinte du réacteur est alimentée en azote afin de chasser l'air résiduel. La température est augmentée progressivement sous brassage constant jusqu'à une température comprise entre 80° et 100°C.
- 10 Etape c) : La pression autogène liée à la vaporisation liée à l'évaporation partielle de l'eau tend alors à augmenter pour atteindre une valeur de 3,2 bars. La couverture chauffante est alors retirée.

- Etape d) : L'enceinte est ensuite dépressurisée par évacuation de la vapeur d'eau puis placés rapidement sous un vide 10 mbar à l'aide d'une pompe à vide protégée
- 15 par un piège maintenu à froid. La température à l'intérieur de l'autoclave chute alors rapidement.

- Etape e) : Après cassage du vide par de l'azote, le mélange à l'intérieur du réacteur se présente alors sous la forme d'un liquide pâteux coloré. Cette phase liquide est alors filtrée. Le filtrat et le gâteau de filtration sont récupérés. La
- 20 phase gazeuse est récupérée dans le piège à vide.

La fraction liquide récupérée (filtrat) correspond à un mélange huile dans eau. Elle est centrifugée afin de séparer l'eau des lipides. Après séchage sous vide, on

recupère une phase grasse correspondant à un rendement d'extraction de 68%. L'analyse des lipides contenus dans cette phase est présentée dans le tableau en suivant.

Indice / Fraction	valeur
Indice d'acide	1,3 mg KOH/g
Indice de peroxyde	4 meq O ₂ /kg
Acide oléique, % relatif	22,8
Acide linoléique, % relatif	13,8
Acide linolénique, % relatif	29,6
Acide palmitique, % relatif	12,2
Acide stéarique, % relatif	5,1
Acide stéaridonique, % relatif	7,8
Acide myristique, % relatif	1,7
Acide laurique, % relatif	0,4
Acide arachidonique, % relatif	0,4

- 5 L'huile de *Chlorella Vulgaris* peut être utilisée telle quelle par exemple pour des usages alimentaires ou cosmétiques ou après transformation en esters dans des applications énergétiques.

La fraction solide récupérée (gâteau solide) après filtration est séchée à l'étuve. La masse finale de gâteau sec est de 82,3g, soit un rendement d'extraction de la
 10 matière solide de 85%. Après analyse, il présente une teneur en protéines de 60,2%, en glucides de 17,3% et en fibres de 8,4%.

Ce produit solide récupéré peut être utilisé à des fins énergétiques tel quel ou après digestion enzymatique des fibres et des sucres pour produire du bioéthanol éco-carburant par exemple. Il peut aussi être utilisé tel quel comme
 15 amendement agricole ou nutriment en aquaculture.

Enfin la fraction gazeuse récupérée dans le piège à vide, principalement composée d'eau peut être réutilisée comme source de vapeur après purification.

REVENDEICATIONS

1. Procédé d'obtention d'extraits d'algue, caractérisé en ce qu'il comprend au moins les étapes suivantes :
 - a) Prétraitement d'au moins un échantillon algal,
 - b) chauffage rapide de l'échantillon pré-traité,
 - 5 c) application d'une pression supérieure ou égale à 1 bar au produit obtenu en b),
 - d) détente instantanée à une pression inférieure ou égale à 1 bar, et
 - e) récupération des produits obtenus en d) sous forme liquide, solide et/ou gazeux.
- 10 2. Procédé d'obtention d'extraits d'algue selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'étape a) consiste à centrifuger une biomasse algale hydratée.
3. Procédé d'obtention d'extraits d'algue selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'étape a) consiste à injecter de la vapeur sèche ou
- 15 humide dans une biomasse algale séchée et/ou lyophilisée.
4. Procédé d'obtention d'extraits d'algue selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce que la température de chauffage à l'étape b) est comprise entre 25 et 150°C.
5. Procédé d'obtention d'extraits d'algue selon l'une des précédentes
- 20 revendications, caractérisé en ce que la pression à l'étape c) est comprise entre 1 et 50 bars.
6. Procédé d'obtention d'extraits d'algue selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce que la détente instantanée à l'étape d) est réalisée à une pression comprise entre 0,01 et 1000 mbar.

7. Procédé d'obtention d'extraits d'algue selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce qu'il comprend également, avant l'étape de chauffage, une étape d'ajout d'une solution saline à l'échantillon algal avant ou après pré-traitement.
- 5 8. Procédé d'obtention d'extraits d'algue selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce que les étapes b), c) et d) sont répétées successivement plusieurs fois avant l'étape e).
9. Procédé d'obtention d'extraits d'algue selon l'une des précédentes revendications, caractérisé en ce que la récupération des produits gazeux à l'étape e) est effectuée par condensation à froid.
- 10 10. Procédé d'obtention d'extraits d'algue selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que la récupération des produits liquides à l'étape e) est effectuée par séparation des phases liquides et solides par centrifugation et/ou filtration.
- 15 11. Procédé d'obtention d'extraits d'algue selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que la récupération des produits solides à l'étape e) est effectuée par séparation des phases liquides et solides par centrifugation et/ou filtration.
12. Procédé d'obtention d'extraits d'algue selon l'une quelconque des précédentes revendications, caractérisé en ce qu'il comprend une ou plusieurs étapes de traitement des produits récupérés à l'étape e).
- 20 13. Procédé d'obtention d'extraits d'algue selon l'une quelconque des précédentes revendications, caractérisé en ce que l'échantillon algal est une microalgue ou une algue diatomée.
- 25 14. Utilisation d'au moins un extrait d'algue obtenu par la mise en œuvre du procédé selon l'une quelconque des précédentes revendications, dans des produits alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques.

15. Utilisation d'au moins un extrait d'algue obtenu par la mise en œuvre du procédé selon l'une des revendications 1 à 13, pour produire du bioéthanol éco-carburant.
- 5 16. Utilisation d'au moins un extrait d'algue obtenu par la mise en œuvre du procédé selon l'une des revendications 1 à 13, pour produire des esters d'acides gras éco-carburants.
17. Utilisation d'au moins un extrait d'algue obtenu par la mise en œuvre du procédé selon l'une des revendications 1 à 13, en tant qu'amendement agricole ou nutriment en aquaculture.



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 711841
FR 0854908

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
Y	FR 2 643 632 A (TALGUIERES HUBERT [FR]; SECCONI GEORGES [FR]) 31 août 1990 (1990-08-31) * le document en entier *	1-13	A61K36/02 A61K8/97 A23L1/29 A23K1/14 C05F11/00 C10L1/02
Y	FR 2 563 704 A (FALGUIERES HUBERT [FR]) 8 novembre 1985 (1985-11-08) * pages 1-3; figures 1-4 *	1-13	
X	GOUEIA ET AL: "Functional food oil coloured by pigments extracted from microalgae with supercritical CO2" FOOD CHEMISTRY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS LTD, GB, vol. 101, no. 2, 10 septembre 2006 (2006-09-10), pages 717-723, XP005852314 ISSN: 0308-8146 * abrégé *	14	
X	MENDIOLA ET AL: "Screening of functional compounds in supercritical fluid extracts from Spirulina platensis" FOOD CHEMISTRY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS LTD, GB, vol. 102, no. 4, 31 janvier 2007 (2007-01-31), pages 1357-1367, XP005893007 ISSN: 0308-8146 * abrégé *	14	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) A23K A23L A61K C05F C10L C12N C12R
X	US 6 180 845 B1 (CATALLO W JAMES [US] ET AL) 30 janvier 2001 (2001-01-30) * revendications 1-20 *	15,16	
X	GB 2 150 552 A (CLEARFIELD NV) 3 juillet 1985 (1985-07-03) * le document en entier *	17	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
10 mars 2009		Esen, Josée	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0854908 FA 711841**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **10-03-2009**

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2643632	A	31-08-1990	AUCUN	

FR 2563704	A	08-11-1985	DE 3515932 A1	07-11-1985
			ES 8607704 A1	16-11-1986
			IT 1186869 B	16-12-1987
			US 4646633 A	03-03-1987

US 6180845	B1	30-01-2001	AUCUN	

GB 2150552	A	03-07-1985	FR 2555569 A1	31-05-1985
