



(22) Date de dépôt/Filing Date: 2011/01/31  
(41) Mise à la disp. pub./Open to Public Insp.: 2011/08/04  
(45) Date de délivrance/Issue Date: 2020/08/25  
(62) Demande originale/Original Application: 2 787 773  
(30) Priorités/Priorities: 2010/01/29 (FR1050644);  
2011/01/28 (FR1150682)

(51) Cl.Int./Int.Cl. *B01D 11/04* (2006.01),  
*A61K 36/00* (2006.01), *A61K 45/06* (2006.01),  
*A61K 8/18* (2006.01), *A61K 8/92* (2006.01),  
*A61K 8/97* (2017.01), *C11B 1/10* (2006.01),  
*C11B 3/00* (2006.01), *C11B 7/00* (2006.01),  
*C11C 3/00* (2006.01), *C11D 13/00* (2006.01)

(72) Inventeurs/Inventors:  
LEGRAND, JACQUES, FR;  
MERCIER, EGLANTINE, FR;  
SAUNOIS, ALEX, FR

(73) Propriétaire/Owner:  
LABORATOIRES EXPANSCIENCE, FR

(74) Agent: LAVERY, DE BILLY, LLP

(54) Titre : EXTRACTION LIQUIDE / LIQUIDE  
(54) Title: LIQUID/LIQUID EXTRACTION

(57) **Abrégé/Abstract:**

L'invention se rapporte au domaine technique des procédés d'extraction d'une fraction insaponifiable. L'invention concerne un procédé d'extraction d'une fraction insaponifiable contenue dans des huiles ou des beurres végétaux, des huiles provenant de micro-organismes, ou des co-produits de l'industrie du raffinage des huiles végétales. Le procédé comprend au moins A) une étape de transformation du substrat notamment via une étape choisie parmi les saponifications et les estérifications et, B) une étape d'extraction de la solution hydro- alcoolique dans laquelle la fraction grasse est séparée de la fraction insaponifiable par une extraction liquide / liquide étant effectuée en utilisant un premier système de solvants comprenant une teneur en tert-butyl éthers, ou en un mélange de tert-butyl éthers avec des solvants aromatiques fluorés, des solvants comprenant au moins un atome de silicium, ou le méthyl-tétrahydrofurane (MeTHF), et leurs mélanges, d'au moins 50% en volume par rapport au volume total du système de solvants.

## ABRÉGÉ

L'invention se rapporte au domaine technique des procédés d'extraction d'une fraction insaponifiable. L'invention concerne un procédé d'extraction d'une fraction insaponifiable contenue dans des huiles ou des beurres végétaux, des huiles provenant de micro-organismes, ou des co-produits de l'industrie du raffinage des huiles végétales. Le procédé comprend au moins A) une étape de transformation du substrat notamment via une étape choisie parmi les saponifications et les estérifications et, B) une étape d'extraction de la solution hydro-alcoolique dans laquelle la fraction grasse est séparée de la fraction insaponifiable par une extraction liquide / liquide étant effectuée en utilisant un premier système de solvants comprenant une teneur en tert-butyl éthers, ou en un mélange de tert-butyl éthers avec des solvants aromatiques fluorés, des solvants comprenant au moins un atome de silicium, ou le méthyl-tétrahydrofurane (MeTHF), et leurs mélanges, d'au moins 50% en volume par rapport au volume total du système de solvants.

**EXTRACTION LIQUIDE / LIQUIDE**

La présente invention concerne un procédé d'extraction de fractions insaponifiables, notamment partielles ou totales, d'huiles ou de beurres végétaux ou d'huiles provenant de micro-organismes.

5 Les insaponifiables ou fractions insaponifiables d'un corps gras sont constitués de composés qui forment la partie d'un corps gras qui, après action prolongée d'une base alcaline, reste insoluble dans l'eau et peut être extraite par un solvant organique.

La plupart des insaponifiables d'huiles ou de beurres végétaux comprennent plusieurs grandes familles de substances. Parmi ces grandes familles on peut citer les hydrocarbures saturés ou insaturés, 10 les alcools aliphatiques ou terpéniques, les stérols, les tocophérols, les pigments caroténoïdes, xanthophiles, ainsi que des familles spécifiques, notamment une ou deux, dans le cas de certaines huiles et beurres.

Les procédés usuels d'obtention des insaponifiables des huiles végétales et des beurres végétaux visent à extraire tout ou partie des grandes familles qui les composent, permettant de préparer les 15 fractions partielles ou totales des insaponifiables.

Les fractions partielles ou totales d'insaponifiables sont notamment recherchées pour leurs propriétés pharmacologiques, cosmétiques et nutritionnelles.

Les procédés usuels d'obtention des insaponifiables des huiles végétales et des beurres végétaux comprennent une étape de saponification de la matière grasse et une extraction du produit cible 20 (l'insaponifiable) par un solvant organique.

Les solvants les plus communément utilisés sont les solvants des huiles, tels que les alcanes (hexane, heptane,...) et les solvants chlorés (1,2-dichloroéthane ou DCE, trichloroéthane, 1-chlorobutane, tétrachlorure de carbone,...). Parmi ces derniers, le DCE et le 1-chlorobutane constituent les meilleurs candidats, notamment au regard de leur rendement d'extraction et de leur sélectivité.

25 Cependant, sur le plan industriel, la toxicité du solvant mis en œuvre ainsi que sa stabilité chimique doivent être pris en compte. A ce titre, les solvants chlorés, et en particulier le 1,2-dichloroéthane (DCE) et le 1-chlorobutane, présentent trois inconvénients majeurs : ils peuvent se dégrader en milieu basique (ce qui est le cas des solutions savonneuses de saponification), ils sont classés parmi les solvants toxiques, notamment CMR pour le DCE, et ils provoquent des impacts 30 négatifs sur l'environnement.

Les solvants chlorés présentent fréquemment une toxicité et/ou une dangerosité indésirable(s)..

Par ailleurs, tant d'un point de vue économique que d'un point de vue environnemental, les procédés d'obtention de fractions insaponifiables peuvent requérir l'utilisation de quantités de solvants organiques non adaptées pour la viabilité du procédé, présenter un nombre d'étapes d'extraction 35 insatisfaisants, être trop lents et/ou présenter des séparations de phase insatisfaisantes, par exemple en provoquant une émulsion non désirée. En particulier, il peut être nécessaire ou utile d'ajuster la concentration de la matière grasse mise en œuvre lors de la saponification pour optimiser le rapport de solvant utilisé.

La présente invention vise donc à résoudre en tout ou partie les problèmes évoqués ci-dessus. En particulier, l'invention vise à fournir un procédé plus économique, plus direct, plus amical pour l'environnement, nécessitant une quantité de solvant organique plus faible, plus facile à mettre en œuvre, plus rapide, générant des conditions moins toxiques et/ou moins dangereuses, améliorant la  
5 séparation de phases, permettant l'obtention d'insaponifiables avec un rendement, un coût et/ou une sélectivité au moins comparables aux procédés déjà existants.

En particulier, il est souhaitable que le(s) solvant(s) impliqué(s) soi(en)t moins dangereux, moins toxique(s), notamment non-classé(s) CMR, soi(en)t chimiquement plus stable(s) que le 1,2-dichloroéthane et/ou que le 1-chlorobutane et/ou permette(nt) d'extraire les insaponifiables avec un  
10 rendement et/ou une sélectivité au moins comparables aux rendements et sélectivités obtenus en utilisant le 1,2-dichloroéthane et/ou le 1-chlorobutane.

Les solvants dits « classés CMR » peuvent être ceux qui sont présentés dans la liste en annexes de la directive 2009/2/CE du 15 janvier 2009,

cette

15 première liste étant appelée ci-après « liste CMR UE1 », ceux listés dans la Classification européenne réglementaire des produits chimiques cancérogènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction – 31e ATP, 2009,

cette deuxième liste étant appelée ci-après « liste CMR UE2 », et/ou ceux listés dans la liste  
« Chemicals known or suspected to cause cancer or reproductive toxicity » du 1<sup>er</sup> septembre 2009  
20 établie par le « California department of public health, occupational health branch, California safe cosmetic program » liée à la « California Safe Cosmetics Act of 2005 » cette troisième liste étant appelée ci-après « liste CMR US ».

Lorsque dans le présent texte est utilisé l'expression liste CMR UE, on entend liste CMR UE1 et/ou CMR UE2.

25 Un des objectifs plus particulier est d'obtenir une fraction insaponifiable spécifique, par exemple ayant une teneur plus forte en certains composés et moins forte en d'autres, en particulier comprenant uniquement une ou certaines des familles de composés de l'insaponifiable total, et/ou une fraction ayant une composition comparable à celle obtenue par un procédé impliquant du DCE et/ou du 1-chlorobutane.

30 Les insaponifiables peuvent être composés de nombreux constituants, en particulier comprenant les grandes familles de substances définies ci-dessus et/ou des familles spécifiques. Il peut être souhaitable d'extraire le plus complètement possible au moins une de ces familles, notamment au moins deux, en particulier au moins trois, tout particulièrement au moins quatre, voire au moins cinq, tout particulièrement au moins six, et encore plus particulièrement toutes les familles composant  
35 l'insaponifiable d'une huile ou d'un beurre donné.

Autrement exprimé, le procédé selon l'invention vise soit à permettre l'obtention d'une fraction partielle spécifique de l'insaponifiable, notamment présentant une teneur enrichie en au moins une des familles composant l'insaponifiable, voire d'extraire spécifiquement un ou plusieurs composés

particulier de l'insaponifiable, soit à permettre d'obtenir la fraction insaponifiable dite totale ou quasi-totale.

La présente invention a ainsi pour objet un procédé d'extraction d'une fraction insaponifiable, notamment partielle ou totale, contenue dans une huile ou un beurre végétal, dans une huile provenant  
5 d'un micro-organisme, dans un concentrât d'huile ou de beurre végétal ou d'huile provenant d'un micro-organisme, ou dans un co-produit de l'industrie du raffinage des huiles végétales ou des huiles provenant de micro-organismes, tel que les échappées de désodorisation, comprenant au moins :

- A) une étape de transformation desdites huiles, dudit beurre ou dudit co-produit de l'industrie du raffinage des huiles végétales ou des huiles provenant de micro-organismes en solution hydro-  
10 alcoolique, notamment via une étape choisie parmi les saponifications et les estérifications,
- B) une étape d'extraction de la solution hydro-alcoolique dans laquelle la fraction grasse est séparée de la fraction insaponifiable par une extraction liquide / liquide ou par une distillation,
- C) éventuellement, une étape de purification de l'insaponifiable choisie dans le groupe constitué  
par les cristallisations et les extractions liquide / liquide,

15 ledit procédé étant caractérisé en ce qu'au moins une étape parmi les extractions liquide / liquide de l'étape B, les cristallisations de l'étape C et les extractions liquide / liquide de l'étape C est effectuée en utilisant un premier système de solvants comprenant une teneur en solvant choisi parmi les solvants aromatiques fluorés, notamment le trifluorotoluène (BTF) et l'hexafluorobenzène (BHF), les tert-butyl  
éthers, notamment le 2-éthoxy-2-méthylpropane, encore appelé éthyl-tert-butyl-éther (ETBE), les  
20 solvants comprenant au moins un atome de silicium, notamment l'hexaméthylidisiloxane (HMDS) et le tétraméthylsilane (TMS), le méthyl-tétrahydrofurane (MeTHF), et leurs mélanges d'au moins 50% en volume par rapport au volume total du système de solvants.

Les numéros CAS de ces différents solvants étant les suivants BTF : 98-08-8 ; BHF : 392-56-3 ;  
ETBE : 37-92-3 ; MTBE : 1634-04-4 ; HMDS : 107-46-0 ; TMS : 75-76-3 ; et MeTHF : 96-47-9.

25 Par « fraction totale », on entend au sens de la présente invention le fait que cette fraction comprend toutes les familles de substances composant l'insaponifiable présentes dans l'huile végétale ou dans l'huile provenant d'un micro-organisme ou dans le beurre végétal considéré.

Par « fraction partielle », on entend au sens de la présente invention le fait que cette fraction comprend au moins une des familles de substances composant l'insaponifiable présentes dans l'huile  
30 ou le beurre végétal ou l'huile provenant d'un micro-organisme considéré.

Selon un mode de réalisation particulier, l'invention concerne un procédé dans lequel l'étape B) comprend, ou consiste en, une extraction liquide / liquide avec le premier système de solvants.

Selon un autre mode de réalisation particulier, l'invention concerne un procédé dans lequel l'étape C) comprend, ou consiste en, une cristallisation ou une extraction liquide / liquide avec le premier  
35 système de solvants.

Selon un mode de réalisation encore plus particulier, le procédé comprend une étape B) comprenant, ou consistant en, une extraction liquide / liquide avec un premier système de solvants et

une étape C) comprenant ou consistant en une cristallisation et/ou une extraction liquide / liquide avec un premier système de solvants identique ou différent de celui utilisé en étape A).

Tout particulièrement, l'étape C) peut permettre de purifier la fraction insaponifiable, d'enrichir celle-ci en une ou plusieurs familles de substances composant l'insaponifiable présente(s) dans l'huile végétale, l'huile provenant d'un micro-organisme ou le beurre végétal considéré. En particulier cela peut permettre d'isoler une fraction spécifique de l'insaponifiable de soja, tels que les composés stéroliques, ou de l'insaponifiable d'avocat, tels que les composés furaniques et/ou stéroliques.

Le premier système de solvants peut comprendre une teneur en solvant choisi parmi les solvants aromatiques fluorés, notamment le trifluorotoluène (BTF) et l'hexafluorobenzène (BHF), les tert-butyl éthers, notamment le 2-éthoxy-2-méthylpropane, encore appelé éthyl-tert-butyl-éther (ETBE), les solvants comprenant au moins un atome de silicium, notamment l'hexaméthylidisiloxane (HMDS) et le tétraméthylsilane (TMS), le méthyl-tétrahydrofurane (MeTHF), et leurs mélanges d'au moins 60 %, notamment au moins 75%, en particulier au moins 90%, plus particulièrement au moins 95%, encore plus particulièrement au moins 99% en volume par rapport au volume total du premier système de solvants.

En particulier, le premier système de solvants est constitué de solvant aromatique fluoré, notamment le trifluorotoluène (BTF) et l'hexafluorobenzène (BHF), de tert-butyl éther, notamment le 2-éthoxy-2-méthylpropane, encore appelé éthyl-tert-butyl-éther (ETBE), de solvant comprenant au moins un atome de silicium, notamment l'hexaméthylidisiloxane (HMDS) et le tétraméthylsilane (TMS), de méthyl-tétrahydrofurane (MeTHF), ou d'un mélange de ceux-ci.

Le premier système de solvants peut comprendre une teneur en un solvant choisi parmi les solvants aromatiques fluorés, notamment le trifluorotoluène (BTF) et l'hexafluorobenzène (BHF), les tert-butyl éthers, notamment le 2-éthoxy-2-méthylpropane, encore appelé éthyl-tert-butyl-éther (ETBE), les solvants comprenant au moins un atome de silicium, notamment l'hexaméthylidisiloxane (HMDS) et le tétraméthylsilane (TMS), le méthyl-tétrahydrofurane (MeTHF), d'au moins 50 %, notamment au moins 75%, en particulier au moins 90%, plus particulièrement au moins 95%, encore plus particulièrement au moins 99% en volume par rapport au volume total du premier système de solvants.

Selon une variante, le premier système de solvants est constitué par un solvant aromatique fluoré, notamment le trifluorotoluène (BTF) et l'hexafluorobenzène (BHF), un tert-butyl éther, notamment le 2-éthoxy-2-méthylpropane, encore appelé éthyl-tert-butyl-éther (ETBE), un solvant comprenant au moins un atome de silicium, notamment l'hexaméthylidisiloxane (HMDS), le tétraméthylsilane (TMS), le méthyl-tétrahydrofurane (MeTHF).

Selon une deuxième variante, le premier système de solvants est constitué d'un premier solvant choisi parmi les solvants aromatiques fluorés, notamment le trifluorotoluène (BTF) et l'hexafluorobenzène (BHF), les tert-butyl éthers, notamment le 2-éthoxy-2-méthylpropane, encore appelé éthyl-tert-butyl-éther (ETBE), les solvants comprenant au moins un atome de silicium, notamment l'hexaméthylidisiloxane (HMDS) et le tétraméthylsilane (TMS), le méthyl-

tétrahydrofurane (MeTHF), et d'un deuxième solvant, différent du premier, choisi parmi les solvants aromatiques fluorés, notamment le trifluorotoluène (BTF) et l'hexafluorobenzène (BHF), les tert-butyl éthers, notamment le 2-éthoxy-2-méthylpropane, encore appelé éthyl-tert-butyl-éther (ETBE), et le 2-méthoxy-2-méthylpropane, encore appelé méthyl-tert-butyl éther (MTBE), les solvants comprenant au moins un atome de silicium, notamment l'hexaméthylidisiloxane (HMDS) et le tétraméthylsilane (TMS), le méthyl-tétrahydrofurane (MeTHF).

Selon une troisième variante, le premier système de solvants est constitué d'un ou plusieurs solvant(s) choisi parmi le HMDS, le HFB et le BTF et d'un ou plusieurs solvant(s) choisi parmi le MeTHF, le MTBE, l'ETBE et le TMS.

Selon une quatrième variante, le premier système de solvants est constitué de HMDS et de MeTHF, en particulier dans des proportions allant de 50/50 à 90/10 (volume/volume).

Par ailleurs, la proportion de HMDS mise en œuvre dans le premier système de solvants peut jouer un rôle important dans la consommation de solvants, d'eau de lavage et/ou de temps d'extraction. Il peut également faciliter la décantation et ainsi provoquer une formation d'émulsions moindre et/ou un déphasage plus rapide au cours des étapes d'extraction et/ou de lavage.

Selon une cinquième variante, le premier système de solvants est constitué d'ETBE.

Selon un mode de réalisation particulier, le premier système de solvants comprend une teneur en solvant(s) CMR, en particulier présent(s) sur la liste CMR UE1, UE2, et/ou US, inférieure ou égale à 10%, notamment inférieure ou égale à 5%, en particulier inférieure ou égale à 2%, tout particulièrement inférieure ou égale à 1%, encore plus particulièrement inférieure ou égale à 0,5%, voire inférieure ou égale à 0,1% en volume par rapport au volume total du premier système de solvants.

Encore plus particulièrement le premier système de solvants est dépourvu de solvants présents sur la liste CMR UE1, UE2 et/ou US.

Les solvants utilisés dans le premier système de solvants présentent une pureté d'au moins 90%, notamment d'au moins 95%, en particulier d'au moins 98%, tout particulièrement d'au moins 99%, voire d'au moins 99,5%.

En particulier, l'étape A) de transformation d'huile, de beurre ou de co-produit de l'industrie du raffinage des huiles végétales en solution hydro-alcoolique, notamment via une étape choisie parmi les saponifications et les estérifications, est effectuée dans un deuxième système de solvants comprenant une teneur en solvant choisi parmi les alcools de C2 à C4, et notamment l'éthanol, le n-propanol, l'iso-propanol, le butanol, en particulier le n-butanol, le MeTHF et leurs mélanges d'au moins 50% en volume par rapport au volume total du deuxième système de solvants.

Le deuxième système de solvants peut comprendre une teneur en solvant choisi parmi les alcools de C2 à C4, et notamment l'éthanol, le n-propanol, l'iso-propanol, le butanol, en particulier le n-butanol, le MeTHF et leurs mélanges d'au moins 60 %, notamment au moins 75%, en particulier au moins 90%, plus particulièrement au moins 95%, encore plus particulièrement au moins 99% en volume par rapport au volume total du deuxième système de solvants.

En particulier, le deuxième système de solvants est constitué d'éthanol, de n-propanol, d'iso-propanol, de butanol, de MeTHF ou d'un mélange de ceux-ci.

Le deuxième système de solvants peut comprendre une teneur en un solvant choisi parmi les alcools de C2 à C4, et notamment l'éthanol, le n-propanol, l'iso-propanol, le butanol, en particulier le  
5 n-butanol, et le MeTHF, d'au moins 50 %, notamment au moins 75%, en particulier au moins 90%, plus particulièrement au moins 95%, encore plus particulièrement au moins 99% en volume par rapport au volume total du deuxième système de solvants.

Selon un mode de réalisation particulier, le deuxième système de solvants comprend une teneur en solvant(s) présent(s) sur la liste CMR UE1, UE2 et/ou US, inférieure ou égale à 10%, notamment  
10 inférieure ou égale à 5%, en particulier inférieure ou égale à 2%, tout particulièrement inférieure ou égale à 1%, encore plus particulièrement inférieure ou égale à 0,5%, voire inférieure ou égale à 0,1% en volume par rapport au volume total du deuxième système de solvants.

Encore plus particulièrement le deuxième système de solvants est dépourvu de solvants présents sur la liste CMR UE1, UE2 et/ou US.

15 Les solvants utilisés dans le deuxième système de solvants présentent une pureté d'au moins 90%, notamment d'au moins 95%, en particulier d'au moins 98%, tout particulièrement d'au moins 99%, voire d'au moins 99,5%.

Par « solution hydroalcoolique diluée (SHD) », on entend au sens de la présente invention le milieu réactionnel de saponification dilué et comprenant notamment de l'eau et un ou plusieurs  
20 solvants très polaires, en particulier choisis parmi les alcools, par exemple en C2 à C4, et le MeTHF.

La solution hydroalcoolique diluée (SHD) extraite peut comprendre une teneur en eau supérieure ou égale à 50%, notamment supérieure ou égale à 60%, en particulier supérieure ou égale à 65%, tout particulièrement supérieure ou égale à 70%, voire supérieure ou égale à 72% en volume par rapport au volume de la solution hydroalcoolique.

25 La solution hydroalcoolique diluée (SHD) à extraire peut comprendre une teneur en eau inférieure ou égale à 95%, notamment inférieure ou égale à 90%, en particulier inférieure ou égale à 85%, tout particulièrement inférieure ou égale à 80%, voire inférieure ou égale à 75% en volume par rapport au volume de la solution hydroalcoolique.

Le rapport (volume/volume) SHD à extraire / système de solvants peut aller de 0,1 à 10,  
30 notamment de 0,25 à 5, en particulier de 0,5 à 2.

Le procédé selon l'invention peut permettre l'obtention d'une fraction insaponifiable sensiblement identique à la fraction insaponifiable obtenue par un procédé « classique » tel que décrit dans l'exemple 1 ci-dessous utilisant le 1,2-dichloroéthane ou le 1-chlorobutane.

Par « fraction insaponifiable sensiblement identique », on entend au sens de la présente invention  
35 une fraction insaponifiable qui présente un profil chromatographique et/ou une composition proche(s) d'une fraction de référence obtenue par une extraction au DCE ou au 1-chlorobutane, notamment l'extraction au DCE ou au 1-chlorobutane classique.

Par « profil chromatographique proche », on entend au sens de la présente invention un profil chromatographique caractérisé en ce que le dit profil chromatographique comporte toutes les familles de l'insaponifiable observées dans la fraction de référence obtenue par un procédé d'extraction classique au 1,2-dichloroéthane ou au 1-chlorobutane.

5 Par « composition proche », on entend au sens de la présente invention une composition caractérisée en ce que la teneur en composés des différentes familles de l'insaponifiable extrait est du même ordre de grandeur que celle observée dans la fraction de référence obtenue par un procédé d'extraction classique au 1,2-dichloroéthane ou au 1-chlorobutane, et plus particulièrement correspondant à la teneur suivante par rapport à la fraction de référence (% en masse par rapport à la  
10 masse de la fraction de référence) :

Avocat

	Composés furaniques	+/- 15 %
	Alcools tri-hydroxylés	+/- 2 %
	Hydrocarbures	+/- 0,5 %
15	Squalène	+/- 0,5 %
	Stérols	+/- 1,5 %
	Non Identifié	+/- 5 %

Soja

20	Hydrocarbures	+/- 0,5 %
	Squalène	+/- 2 %
	Tocophérols	+/- 8 %
	Stérols	+/- 10 %
	Non Identifié	+/- 3 %

25

Dans le cas présent « +/- Y % » signifie que, dans le cas où la valeur de référence est X %, les teneurs peuvent aller de (X-Y) % à (X+Y) %. Dans le cas où X est 70 % et Y 15 %, la teneur peut aller de 55 % à 85 %.

30 En l'occurrence, la partie « Non Identifiée » peut ne pas être comprise dans la gamme spécifiée ci-dessus.

Par « extraction classique au 1,2-dichloroéthane ou au 1-chlorobutane », on entend au sens de la présente invention une extraction au 1,2 dichloroéthane ou au 1-chlorobutane suivant le procédé défini dans l'exemple 1, à partir de la même matière première que celle utilisée au cours de l'extraction d'un insaponifiable avec un autre système de solvants.

35 Par « fraction de référence », on entend au sens de la présente invention un insaponifiable extrait au 1,2 dichloroéthane ou au 1-chlorobutane, à partir de la même matière première que celle utilisée au cours de l'extraction d'un insaponifiable avec un autre système de solvants.

Par exemple dans le cas de l'avocat et du soja selon les protocoles décrits en exemple 1 dans le brevet EP 1 246 633 B1.

La présente invention a encore pour objet un procédé d'extraction d'une fraction insaponifiable, notamment partielle ou totale, contenue dans une huile végétale, une huile provenant d'un micro-organisme, un beurre végétal ou un co-produit de l'industrie du raffinage des huiles végétales, notamment d'avocat et/ou de soja, ou des huiles provenant de micro-organismes comprenant au moins :

- A) une étape de saponification par laquelle lesdites huiles, ledit beurre ou ledit co-produit de l'industrie du raffinage des huiles végétales ou des huiles provenant de micro-organismes est transformé en une solution hydro-alcoolique,
- B) une étape d'extraction de la solution hydro-alcoolique par un premier système de solvants tel que défini ci-dessus.

Plus particulièrement, le procédé d'extraction de la fraction insaponifiable d'une huile de soja selon la présente invention est tel que l'on effectue une extraction liquide / liquide en mettant en contact la SHD avec un premier système de solvants, notamment à contre-courant, de la SHD au moyen d'un premier système de solvants tel que défini ci-dessus, en particulier constitué de BTF, le rapport (volume/volume) système de solvants / SHD allant de 0,1 à 10, notamment de 0,25 à 5, en particulier de 0,5 à 2.

Plus particulièrement, le procédé d'extraction de la fraction insaponifiable d'une huile d'avocat selon la présente invention est tel que l'on effectue une extraction liquide / liquide en mettant en contact la SHD avec un premier système de solvants, notamment une extraction à contre-courant de la SHD au moyen d'un système de solvants, en particulier constitué d'un mélange d'ETBE, le rapport (volume/volume) système de solvants / SHD allant de 0,1 à 10, notamment de 0,25 à 5, en particulier de 0,5 à 2.

L'huile végétale ou l'huile provenant de micro-organisme utilisée dans le présent procédé peut être choisie parmi l'huile de soja, de quinoa, de colza, de maïs, de tournesol, de sésame, de lupin, de coton, de noix de coco, d'olive, de palme, de germe de blé, de luzerne, d'avocat, de palmiste, d'arachide, de coprah, de lin, de ricin, de pépins de raisin, de pépins de courge, de pépins de cassis, de pépins de melon, de pépins de tomate, de pépins de citrouille, d'amande, de noisette, de noix, d'onagre, de bourrache, de carthame, de cameline, d'oeillette, de macro-algues, de micro-algues, comme *Chorella*, et/ou provenir de micro-organismes, notamment marin, d'eau douce ou terrestre, en particulier de levures, de moisissures, et plus particulièrement, de bactéries, et leurs mélanges.

Le beurre végétal peut être choisi parmi le beurre de cacao, d'illipé, de karité, et leurs mélanges.

La comparaison des teneurs en insaponifiables de différentes huiles végétales : soja, coton, noix de coco, olive et avocat, montre que l'huile d'avocat obtenue par extraction suivant divers procédés connus comprend un taux particulièrement important d'insaponifiable.

Typiquement, les teneurs de fraction insaponifiable obtenues s'échelonnent de 2 à 10% dans l'huile d'avocat, sont d'environ 0,5% dans l'huile de coco, d'environ 1% dans l'huile de soja et d'environ 1 % dans l'huile d'olive.

L'insaponifiable d'avocat peut être préparé par extraction à partir d'huile d'avocat.

5 Le procédé d'extraction de l'insaponifiable d'une huile d'avocat peut être effectué de la façon suivante.

Selon une méthode connue de l'homme du métier :

- soit on presse la pulpe fraîche en présence d'un tiers corps fibreux absorbant l'eau, tel que la parche de café, dans une presse à cage, puis on sépare l'émulsion d'huile et d'eau obtenue par  
10 décantation et/ou centrifugation;

- soit on broie la pulpe fraîche et on la met en contact avec un solvant organique adapté (par exemple un mélange méthanol-chloroforme) puis on récupère l'huile par évaporation du solvant. Plusieurs procédés ont été décrits dans l'art antérieur pour extraire la fraction insaponifiable d'une  
huile végétale.

15 On peut citer en particulier le procédé de préparation d'insaponifiable d'huile d'avocat tel que décrit et revendiqué dans le brevet FR 2 678 632 au nom des Laboratoires Pharmascience. Ce procédé permet d'obtenir un insaponifiable d'avocat riche en fraction furanique, encore appelée fraction H, en comparaison aux procédés classiques de préparation d'insaponifiable d'avocat.

20 Ainsi, l'insaponifiable d'huile d'avocat utilisé selon l'invention peut être obtenu à partir du fruit frais mais, de préférence, l'insaponifiable d'avocat est préparé à partir du fruit préalablement traité thermiquement, avant l'extraction de l'huile et la saponification, comme décrit dans le brevet FR 2 678 632.

Ce traitement thermique consiste en un séchage contrôlé du fruit, frais de préférence, pendant au  
25 moins quatre heures, avantageusement au moins 10 heures, de préférence entre environ 24 et environ 48 heures, à une température de préférence d'au moins environ 80°C et de préférence comprise entre environ 80 et environ 120°C.

On peut également citer le procédé de préparation d'insaponifiable d'huile de soja, obtenu à partir d'un concentrât d'insaponifiable d'huile de soja.

30 Ledit concentrât d'insaponifiable est préparé par distillation moléculaire selon un procédé tel que décrit pour l'huile de lupin dans la demande de brevet FR 2 762 512, mais adapté à l'huile de soja.

Dans ce procédé, l'huile de soja est distillée dans un distillateur moléculaire de type centrifuge ou à film raclé, à une température comprise entre environ 210 et 250°C et sous un vide poussé, compris entre 0,01 et 0,001 millimètres de mercure (soit 0,13 à 1,3 Pa).

35 Le distillat obtenu présente une teneur en insaponifiable comprise entre 5 et 40% en volume et constitue donc un concentrât d'insaponifiable d'huile de soja.

Le concentrât est ensuite saponifié par une base telle que la potasse ou la soude en milieu polaire, notamment alcoolique, de préférence de l'éthanol, du n-propanol, de l'iso-propanol, du

butanol, en particulier le du n-butanol, du MeTHF, ou un mélange de ceux-ci, puis il est soumis à une ou plusieurs extractions par le premier système de solvants.

La solution d'extraction obtenue est de préférence ensuite centrifugée, filtrée puis lavée à l'eau pour éliminer les traces résiduelles d'alcalinité.

5 Le solvant d'extraction est évaporé soigneusement pour récupérer l'insaponifiable..

Enfin, avant sa saponification, l'huile peut être préalablement enrichie en insaponifiable en séparant une majorité des constituants de l'insaponifiable que l'on récupère dans un concentrât. Différentes méthodes peuvent être utilisées : cristallisation par le froid, extraction liquide / liquide, ou encore distillation moléculaire.

10 La concentration préalable de l'huile en insaponifiable permet de diminuer les volumes d'huile à saponifier.

La distillation moléculaire est particulièrement préférée, étant réalisée de préférence à une température comprise entre environ 180 et environ 230°C en maintenant une pression comprise entre  $10^{-3}$  et  $10^{-2}$  mm Hg et de préférence de l'ordre de  $10^{-3}$  mm Hg.

15 La concentration en insaponifiable du distillat peut atteindre 60 % en masse par rapport à la masse totale.

Tout particulièrement, la présente invention concerne un procédé tel que décrit ci-dessus dans lequel l'insaponifiable obtenu est choisi parmi un insaponifiable de soja, un insaponifiable d'avocat, notamment un insaponifiable d'avocat riche en fraction furanique et/ou un insaponifiable d'avocat  
20 riche en fraction stérolique, et encore plus particulièrement un mélange d'insaponifiables d'avocat et de soja (ASU).

Le procédé selon la présente invention permet d'extraire une fraction insaponifiable contenue dans une huile végétale, une huile provenant d'un micro-organisme ou un beurre végétal, il peut également permettre d'extraire une fraction insaponifiable à partir d'un co-produit de l'industrie du raffinage des  
25 huiles végétales ou des huiles provenant d'un micro-organisme, comme par exemple les échappées de désodorisation, encore appelées déodistillats, produites au cours du raffinage des huiles végétales ou des huiles provenant de micro-organismes.

Les acides gras et les glycérides partiels présents dans les déodistillats peuvent en effet être saponifiés ou estérifiés par un alcool léger, dans le but de séparer la fraction grasse de la fraction  
30 insaponifiable, soit par extraction liquide / liquide soit par distillation sous vide.

Enfin, la purification de l'insaponifiable ou des fractions actives séparées, le plus souvent les tocophérols (incluant la vitamine E) et les stérols, met en jeu notamment des étapes de cristallisation dans un solvant organique ou d'extraction liquide / liquide.

La présente invention a également pour objet un procédé d'extraction de la fraction  
35 insaponifiable dans un co-produit de l'industrie du raffinage d'une huile végétale ou d'une huile provenant d'un micro-organisme, tel que ce co-produit est un déodistillat d'une huile végétale ou d'une huile provenant d'un micro-organisme, ledit procédé comprenant au moins :

- une étape de saponification transformant le déodistillat en une solution hydro-alcoolique,

- une étape d'extraction à contre-courant de la solution hydro-alcoolique au moyen du premier système de solvants,
- une étape de cristallisation des stérols et/ou des alcools triterpéniques,
- une étape de séparation d'un composé actif, tel que les tocophérols, les tocotriénols, le squalène et les carotènes, ladite étape de séparation étant choisie dans le groupe formé par les extractions, en particulier au moyen du premier système de solvants, et les distillations.

Tout particulièrement, la cristallisation des stérols et/ou des alcools triterpéniques peut être effectuée dans le premier système de solvants.

La présente invention a encore pour objet une fraction insaponifiable, notamment partielle ou totale, dépourvue de solvants classés dans la liste CMR UE1, UE2 et/ou US, en particulier ladite fraction est obtenue par le procédé d'extraction selon la présente invention.

La présente invention concerne encore l'utilisation de cette fraction pour la préparation d'une composition, notamment pharmaceutique, alimentaire et/ou cosmétique, ou encore d'un complément alimentaire.

La présente invention a encore pour objet une composition, notamment alimentaire, cosmétique ou pharmaceutique, ou encore un complément alimentaire, comprenant au moins une fraction insaponifiable d'au moins une huile végétale ou d'une huile provenant d'un micro-organisme, ladite fraction étant dépourvue de solvants classés dans la liste CMR UE1, UE2 et/ou US et/ou ladite fraction étant susceptible d'être obtenue, ou directement obtenue, par le procédé selon l'invention, et ladite composition comprenant éventuellement un excipient, en particulier cosmétiquement, alimentaires ou pharmaceutiquement acceptable.

Selon un mode de réalisation particulier, la présente invention concerne une composition, notamment pharmaceutique, alimentaire ou cosmétique, ou encore un complément alimentaire, comprenant au moins un insaponifiable, en particulier un insaponifiable de soja, un insaponifiable d'avocat, tout particulièrement un insaponifiable d'avocat riche en fraction furanique et/ou un insaponifiable d'avocat riche en fraction stérolique, et encore plus particulièrement un mélange d'insaponifiables d'avocat et de soja (ASU) susceptible d'être obtenu ou directement obtenu par le procédé selon l'invention.

Les compositions pharmaceutiques peuvent être destinées à la prévention et/ou au traitement de troubles du tissu conjonctif, notamment de l'arthrose, des parodontopathies et/ou du vieillissement cutané.

Les compositions alimentaires, ou compléments alimentaires peuvent être destinées à la prévention et/ou au traitement de troubles du tissu conjonctif, notamment de l'arthrose, des parodontopathies, du vieillissement cutané et/ou et inflammation cutanée.

Les compositions cosmétiques peuvent être destinées à la prévention et/ou au traitement des troubles cutanés de l'épiderme du derme et/ou de l'hypoderme.

Par « dépourvu de solvants classés dans la liste CMR UE1, UE2 et/ou US », on entend au sens de la présente invention une teneur totale en solvants classés dans la liste CMR UE1, UE2 et/ou US

inférieure à 10 ppm, notamment inférieure à 5 ppm, en particulier inférieure à 2 ppm, voire inférieure à 1 ppm.

La présente invention vise encore un procédé de traitement cosmétique tel que l'on applique de façon topique la composition cosmétique selon l'invention et aussi l'utilisation d'un insaponifiable d'une huile végétale, d'une huile provenant d'un micro-organisme ou d'un beurre végétal obtenu selon la présente invention pour la fabrication d'un médicament, en particulier destiné à traiter ou à prévenir des troubles du tissu conjonctif, et notamment l'arthrose.

Bien entendu, les différentes caractéristiques exposées dans la présente description peuvent être combinées entre elles.

A titre d'exemples illustrant la présente invention, les expérimentations suivantes ont été effectuées.

### EXEMPLES

#### Exemple 1 : Extraction d'insaponifiable d'avocat avec du DCE (référence 1)

La première étape consiste à saponifier un concentrat préparé par distillation moléculaire d'huile d'avocat.

A cet effet, dans un ballon de 100 ml équipé d'un réfrigérant sont successivement introduits une masse donnée de concentrat d'huile d'avocat (45,6 g) puis de l'éthanol (36,6 g), de la potasse à 50 % (5,2 g) et quelques grains de pierre ponce.

Le système est ensuite porté à reflux pendant 3h30 puis, après refroidissement, dilué avec de l'eau déminéralisée (60 ml).

Après saponification, une solution hydro-alcoolique est obtenue contenant l'insaponifiable (ou fraction d'insaponifiable) en solution. Cet insaponifiable est alors extrait par un premier système de solvants, en l'occurrence le DCE.

Plusieurs extractions successives (5 x 70 ml) sont réalisées ; les phases organiques ainsi collectées sont ensuite rassemblées et lavées à l'eau de ville (5 x 70 ml) jusqu'à neutralité (test à la phénolphthaléine).

La phase solvant obtenue est alors séchée sur sulfate de sodium anhydre puis filtrée ; l'insaponifiable est ensuite récupéré par évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif.

L'insaponifiable ainsi extrait est pesé et stocké dans un pilulier sous atmosphère inerte.

La composition de l'insaponifiable extrait est ensuite mesurée par CPG (Chromatographie Phase Gazeuse). Les résultats sont présentés dans le tableau 1 ci-après.

#### Exemple 2 : Extraction d'insaponifiable d'avocat avec du HMDS

L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de l'Exemple 1 qui, après optimisation pour l'adapter au nouveau système de solvants, correspond à une étape d'extraction avec 4 x 70 ml de l'HMDS au lieu du DCE et une étape de lavage des phases organiques avec 3 x 70 ml d'eau. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 1 et les résultats sont présentés dans le tableau 1 ci-après.

Exemple 3 : Extraction d'insaponifiable d'avocat avec un mélange HMDS-MeTHF (90/10 en volume)

L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de l'Exemple 1 qui, après optimisation pour l'adapter au nouveau système de solvants, correspond à une étape d'extraction avec 4 x 70 ml d'un mélange HMDS-MeTHF (90/10 en volume) au lieu du DCE et une étape de lavage des phases organiques avec 2 x 70 ml d'eau. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 1 et les résultats sont présentés dans le tableau 1 ci-après.

Exemple 4 : Extraction d'insaponifiable d'avocat avec un mélange HMDS-MeTHF (50/50 en volume)

L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de l'Exemple 1 qui, après optimisation pour l'adapter au nouveau système de solvants, correspond à une étape d'extraction avec 6 x 70 ml d'un mélange HMDS-MeTHF (50/50 en volume) au lieu du DCE et une étape de lavage des phases organiques avec 8 x 70 ml d'eau. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 1 et les résultats sont présentés dans le tableau 1 ci-après.

Tableau 1

Analyse – Profil chromatographique et composition de l'insaponifiable extrait selon les exemples 1 à 4

		Ex.1	Ex.2	Ex. 3	Ex. 4
Composés spécifiques	Composés furaniques	63,7	80,3	77,6	52,4
	Alcools tri-hydroxylés	8,6	0,4	1	14,0
Hydrocarbures		1,2	1,4	1,4	1,1
Squalène		1,1	1,4	1,3	1,0
Tocophérols		Traces	Traces	Traces	Traces
Stérols		3,5	1,2	2,4	3,4
Autres		11,6	12,3	10,0	9,7
<b>Rendement massique par rapport au concentrât</b>		<b>39%</b>	<b>28%</b>	<b>29%</b>	<b>45%</b>

Rendement massique par rapport au concentrât = 100 x (Masse d'insaponifiable extrait/ Masse de concentrât mis en jeu)

Les mélanges testés permettent d'aboutir à une extraction de l'insaponifiable. Tous les insaponifiables obtenus présentent un profil chromatographique proche de celui observé sur le produit de référence extrait au DCE.

Cependant leur composition met en avant l'influence des caractéristiques de polarité du premier système de solvants sur le potentiel de sélectivité vis à vis des constituants de l'insaponifiable extrait. Avec le mélange le plus polaire, les composés les plus polaires sont extraits en proportion plus importante.

Le HMDS utilisé seul permet une extraction sélective des composés apolaires.

Ainsi, un mélange HMDS/MeTHF permet d'extraire un insaponifiable présentant un profil chromatographique proche de celui de l'insaponifiable de référence. La composition de l'insaponifiable extrait est directement liée à la composition du système de solvants et plus particulièrement à sa polarité : plus le système de solvants est polaire, plus l'insaponifiable sera riche en composés polaires tels que les alcools tri-hydroxylés ; inversement, plus le système de solvants sera apolaire et plus l'extraction sera sélective et l'insaponifiable riche en composés apolaires tels les composés furaniques.

De plus, la composition du premier système de solvants, de par sa faible polarité, permet d'améliorer les étapes d'extraction et de lavage en limitant les quantités de solvants et/ou d'eau mises en œuvre ainsi qu'en facilitant le déphasage.

Exemple 5 : Extraction d'insaponifiable d'avocat avec de l'ETBE

L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de l'Exemple 1 qui, après optimisation pour l'adapter au nouveau système de solvants, correspond à une étape d'extraction avec 4 x 60 ml d'ETBE au lieu du DCE et une étape de lavage des phases organiques avec 4 x 70 ml d'eau. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 1 et les résultats sont présentés dans le tableau 2 ci-après.

Tableau 2

Analyse – Profil chromatographique et composition de l'insaponifiable extrait selon les exemples 1 et 5

		Ex.1	Ex. 5
Composés spécifiques	Composés furaniques	63,7	63,8
	Alcools tri-hydroxylés	8,6	7,1
Hydrocarbures		1,2	1,2
Squalène		1,1	1,1
Tocophérols		Traces	Traces
Stérols		3,5	3,0
Autres		11,6	11,4
<b>Rendement massique par rapport au concentrât</b>		<b>39%</b>	<b>36%</b>

Le premier système de solvants testé permet d'aboutir à une extraction d'insaponifiable avec un rendement massique voisin de celui obtenu lors d'une extraction classique au DCE. L'insaponifiable obtenu présente un profil chromatographique et une composition proches de ceux observés sur le produit de référence extrait au DCE.

De plus l'ETBE permet de diminuer le nombre d'extractions et donc la quantité de solvants ainsi que le nombre de lavages et donc la quantité d'eau à mettre en œuvre pour extraire la fraction insaponifiable d'un concentrât d'avocat.

En conclusion, l'ETBE se présente comme une bonne alternative à l'utilisation du DCE en tant que premier système de solvants dans le procédé d'extraction d'insaponifiable d'avocat.

Exemple 6 : Extraction d'insaponifiable d'avocat avec du 1-chlorobutane (référence 2)

5 L'extraction et le lavage sont effectués selon le mode opératoire de l'Exemple 1 avec du 1-chlorobutane au lieu du DCE. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 1 et les résultats sont présentés dans le tableau 3 ci-après.

Exemple 7 : Extraction d'insaponifiable d'avocat avec du BTF

10 La saponification est réalisée selon le mode opératoire de l'Exemple 1 à ceci près que l'éthanol est remplacé par de l'iso-propanol (36,6 ml). L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de l'Exemple 1 qui, après optimisation pour l'adapter au nouveau système de solvants, correspond à une étape d'extraction avec 4 x 35 ml de BTF au lieu du DCE et une étape de lavage des phases organiques avec 4 x 35 ml d'eau. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 1 et les  
15 résultats sont présentés dans le tableau 1 ci-après.

Exemple 8 : Extraction d'insaponifiable d'avocat avec du HMDS

La saponification est réalisée selon le mode opératoire de l'Exemple 1 à ceci près que l'éthanol est remplacé par du MeTHF (36,6 ml). L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de  
20 l'Exemple 1 qui, après optimisation pour l'adapter au nouveau système de solvants, correspond à une étape d'extraction avec 3 x 70 ml de HMDS au lieu du DCE et une étape de lavage des phases organiques avec 3 x 70 ml d'eau. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 1 et les résultats sont présentés dans le tableau 3 ci-après.

25

Tableau 3

Analyse – Profil chromatographique et composition de l'insaponifiable extrait selon les exemples 6 à 8

		Ex.6	Ex.7	Ex. 8
Composés spécifiques	Composés furaniques	60,7	72,5	70,0
	Alcools tri- hydroxylés	5,5	3,1	2,8
Hydrocarbures		1,1	1,4	1,2
Squalène		1,1	1,3	1,2
Tocophérols		Traces	Traces	Traces
Stérols		3,1	3,1	2,4
Autres		14,0	9,8	14,8

L'utilisation du MeTHF en deuxième système de solvants couplé à celle du HMDS en premier système de solvants permet d'aboutir à une extraction d'insaponifiable. L'insaponifiable obtenu présente un profil chromatographique et une composition proches de ceux observés sur le produit de référence extrait au 1-chlorobutane.

5 De même, l'utilisation de l'isopropanol en deuxième système de solvants couplé à celle du BTF en premier système de solvants permet d'aboutir à une extraction d'insaponifiable. L'insaponifiable obtenu présente un profil chromatographique et une composition proches de ceux observés sur le produit de référence extrait au 1-chlorobutane.

10 L'utilisation du MeTHF en deuxième système de solvants couplé à celle du HMDS en premier système de solvants d'une part et de l'isopropanol en deuxième système de solvants couplé à celle du BTF en premier système de solvants d'autre part permet de diminuer le nombre d'extractions et les quantités de solvants mises en œuvre ainsi que le nombre de lavages et par la même les quantités d'eau à utiliser.

15 En conclusion, les couples MeTHF/HMDS d'une part et isopropanol/BTF d'autre part se présentent comme de bonnes alternatives à l'utilisation du couple éthanol/1-chlorobutane en permettant l'extraction d'insaponifiable de profils et compositions proches du produit de référence tout en diminuant les quantités de solvants et eau utilisées.

#### Exemple 9 : Extraction d'insaponifiable de soja avec du DCE

20 La première étape consiste à saponifier un concentrât de soja. A cet effet, dans un ballon de 100 ml équipé d'un réfrigérant sont successivement introduits une masse donnée de concentrât d'huile de soja (10,0 g) puis, de l'éthanol (23,3 ml), de la potasse à 50% (1,7 ml) et quelques grains de pierre ponce.

Le système est ensuite porté à reflux pendant 3h00 puis dilué avec de l'eau déminéralisée (60 ml).

25 Après saponification, une solution hydro-alcoolique est obtenue contenant l'insaponifiable (ou fraction d'insaponifiable) en solution. Cet insaponifiable est alors extrait par un premier système de solvants, en l'occurrence le DCE.

Plusieurs extractions successives (5 x 43 ml) sont réalisées; les phases organiques ainsi collectées sont ensuite rassemblées et lavées à l'eau (7 x 43 ml) jusqu'à neutralité (test à la phénolphthaléine).

30 La phase solvant obtenue est alors séchée sur sulfate de sodium anhydre puis filtrée; l'insaponifiable est ensuite récupéré par évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif. L'insaponifiable ainsi extrait est pesé et stocké dans un pilulier sous atmosphère inerte.

La composition de l'insaponifiable extrait est ensuite mesurée par CPG (Chromatographie Phase Gazeuse). Les résultats sont présentés dans le tableau 4 ci-après.

35

#### Exemple 10 : Extraction d'insaponifiable de soja avec du BTF

La saponification est réalisée selon le mode opératoire de l'Exemple 9 à ceci près que le volume d'éthanol est augmenté (50,0 ml). L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de

L'Exemple 9 qui, après optimisation pour l'adapter au nouveau système de solvants, correspond à une étape d'extraction avec 7 x 35 ml de BTF au lieu du DCE et une étape de lavage des phases organiques avec 10 x 35 ml d'eau. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 9 et les résultats sont présentés dans le tableau 4 ci-après.

5

Exemple 11 : Extraction d'insaponifiable de soja avec un mélange de HMDS-MeTHF (50/50 en volume)

L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de l'Exemple 9 qui, après optimisation pour l'adapter au nouveau système de solvants, correspond à une étape d'extraction avec 5 x 43 ml d'un mélange de HMDS-MeTHF (50/50 en volume) au lieu du DCE et une étape de lavage des phases organiques avec 4 x 43 ml d'eau. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 9 et les résultats sont présentés dans le tableau 4 ci-après.

10

Tableau 4

Analyse – Profil chromatographique et composition de l'insaponifiable extrait selon les exemples 9 à

15

	Ex.9	Ex.10	Ex. 11
Hydrocarbures	0,1	0,2	0,1
Squalène	4,4	4,5	3,9
Tocophérols	25,8	23,4	19,8
Stérols	44,3	43,7	41,0
Autres	6,0	6,1	4,6
<b>Rendement massique par rapport au concentrât</b>	<b>45%</b>	<b>38%</b>	<b>49%</b>

Les premiers systèmes de solvants testés permettent d'aboutir à une extraction d'insaponifiable. L'insaponifiable obtenu présente un profil chromatographique et une composition proches de ceux observés sur le produit de référence extrait au DCE.

20

En conclusion, le BTF et un mélange HMDS/MeTHF à 50% en volume se présentent comme de bonnes alternatives à l'utilisation du DCE.

Exemple 12 : Extraction d'insaponifiable de colza avec du BTF

25

La saponification est réalisée selon le mode opératoire de l'Exemple 10 à ceci près que le concentrât considéré est un concentrât de colza. L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de l'Exemple 10. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 10 et les résultats sont présentés dans les tableaux 5 ci-après.

Exemple 13 : Extraction d'insaponifiable de maïs avec du BTF

La saponification est réalisée selon le mode opératoire de l'Exemple 10 à ceci près que le concentrât considéré est un concentrât de maïs. L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de l'Exemple 10. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 10 et les résultats sont présentés dans les tableaux 5 ci-après.

5

Exemple 14 : Extraction d'insaponifiable de tournesol avec du BTF

La saponification est réalisée selon le mode opératoire de l'Exemple 10 à ceci près que le concentrât considéré est un concentrât de tournesol. L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de l'Exemple 10. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 10 et les résultats sont présentés dans les tableaux 5 ci-après.

10

Tableau 5

Analyse – Profil chromatographique et composition de l'insaponifiable extrait selon les exemples 10 et 12 à 14

15

	Ex.10	Ex.12	Ex. 13	Ex. 14
Tocophérols (%)	23,4	6,4	7,9	9,7
Stérols (%)	43,7	63,1	55,3	58,7
Rendement massique par rapport au concentrat	<b>38%</b>	<b>7,2%</b>	<b>9,0%</b>	<b>4,0%</b>
Rendement massique par rapport à l'insaponifiable	<b>79%</b>	<b>76%</b>	<b>83%</b>	<b>78%</b>

Le BTF appliqué à différentes matières végétales donne des résultats équivalents en termes de rendement massique par rapport à l'insaponifiable.

Exemple 15 : Extraction d'insaponifiable de sésame avec de l'ETBE

La saponification est réalisée selon le mode opératoire de l'Exemple 5 à ceci près que le concentrat considéré est un concentrat de sésame. L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de l'Exemple 5. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 5 et les résultats sont présentés dans les tableaux 6 ci-après.

20

Exemple 16 : Extraction d'insaponifiable de sésame avec un mélange HMDS-MeTHF (50/50 en volume)

La saponification est réalisée selon le mode opératoire de l'Exemple 4 à ceci près que le concentrât considéré est un concentrât de sésame. L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de l'Exemple 4. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 4 et les résultats sont présentés dans

le tableaux 6 ci-après.

30

Tableau 6

Analyse – Profil chromatographique et composition de l'insaponifiable extrait selon les exemples 15 et 16

	Ex.15	Ex.16
Stérols (%)	17,4	20,0
Sésamine (%)	28,0	31,4
Sésamoline (%)	13,3	15,7
Rendement massique par rapport au concentrât	<b>12%</b>	<b>15%</b>
Rendement massique par rapport à l'insaponifiable	<b>83%</b>	<b>98%</b>

5

L'ETBE et le mélange HMDS-MeTHF (50/50 en volume) sont tout deux de bon solvants d'extraction pour l'insaponifiable de sésame. Le mélange HMDS-MeTHF présente une excellente capacité extractive avec un rendement d'extraction de l'insaponifiable de 98% massique.

10 Exemple 17 : Extraction d'insaponifiable de palme avec du BTF

La saponification est réalisée selon le mode opératoire de l'Exemple 10 à ceci près que le concentrât considéré est un concentrât de palme. L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de l'Exemple 10. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 10 et les résultats sont présentés dans les tableaux 7 ci-après.

15

Exemple 18 : Extraction d'insaponifiable de palme avec un mélange HMDS-MeTHF (50/50 en volume)

20 La saponification est réalisée selon le mode opératoire de l'Exemple 11 à ceci près que le concentrât considéré est un concentrât de palme. L'extraction est effectuée selon le mode opératoire de l'Exemple 11. Les mesures sont effectuées comme dans l'Exemple 11 et les résultats sont présentés dans le tableau 7 ci-après.

Tableau 7

25

Analyse – Profil chromatographique et composition de l'insaponifiable extrait selon les exemples 17 et 18

	Ex.17	Ex.18
Stérols (%)	23,0	25,0
Tocophérols (%)	3,7	3,2
Tocotrienols (%)	11,4	8,9
Carotènes	0,6	0,5
Rendement massique par rapport au concentrât	<b>2%</b>	<b>3%</b>
Rendement massique par rapport à l'insaponifiable	<b>75%</b>	<b>99%</b>

Le BTF et le mélange HMDS-MeTHF (50/50 en volume) sont tout deux de bon solvants d'extraction pour l'insaponifiable de palme. Le mélange HMDS-MeTHF présente une excellente capacité extractive avec un rendement d'extraction de l'insaponifiable de 99% massique.

5

## REVENDEICATIONS

1. Procédé d'extraction d'une fraction insaponifiable contenue dans une huile végétale, une huile provenant d'un micro-organisme ou un beurre végétal, ou dans un co-produit de l'industrie du raffinage des huiles végétales ou des huiles provenant de micro-organismes, comprenant au moins :
  - A) une étape de transformation par saponification ou estérification desdites huiles, dudit beurre ou dudit co-produit de l'industrie du raffinage des huiles végétales ou des huiles provenant de micro-organismes en solution hydro-alcoolique, et
  - 10 B) une étape d'extraction de la solution hydro-alcoolique dans laquelle la fraction grasse est séparée de la fraction insaponifiable par une extraction liquide / liquide, ledit procédé étant caractérisé en ce que l'extraction liquide / liquide de l'étape B est effectuée en utilisant un premier système de solvants comprenant une teneur en tert-butyl éthers, ou en un mélange de tert-butyl éthers avec des solvants aromatiques fluorés, ou des solvants comprenant 15 au moins un atome de silicium, et leurs mélanges, d'au moins 50% en volume par rapport au volume total du premier système de solvants.
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend une étape C de purification de l'insaponifiable choisie dans le groupe constitué par les cristallisations et les extractions 20 liquide / liquide.
3. Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que les cristallisations de l'étape C ou les extractions liquide / liquide de l'étape C sont effectuées en utilisant un premier système de solvants comprenant une teneur en tert-butyl éthers, ou un mélange de tert-butyl éthers avec des solvants aromatiques fluorés, ou des solvants comprenant au moins un atome de silicium, et leurs mélanges, d'au moins 50% en volume par rapport au volume total du premier système de solvants. 25
4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le premier système de solvants comprend une teneur en tert-butyl éthers, ou en un mélange de tert-butyl éthers avec des solvants aromatiques fluorés, ou des solvants comprenant au moins un atome de silicium, et leurs mélanges d'au moins 75%, en volume par rapport au volume total du premier système de solvants. 30
- 35 5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le premier système de solvants est constitué de tert-butyl éther ou d'un mélange de tert-butyl éther avec un solvant aromatique fluoré, ou un solvant comprenant au moins un atome de silicium, ou un mélange de ceux-ci.

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le premier système de solvants comprend une teneur en tert-butyl éther ou en mélange de tert-butyl éther avec les solvants aromatiques fluorés, ou les solvants comprenant au moins un atome de silicium, d'au moins 90 % en volume par rapport au volume total du premier système de solvants.
7. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que l'étape A) de transformation d'huile ou de beurre en solution hydro-alcoolique, par une étape choisie parmi les saponifications et les estérifications, est effectuée dans un deuxième système de solvants comprenant une teneur en solvant choisi parmi les alcools de C2 à C4, le méthyl-tétrahydrofurane (MeTHF), et leurs mélanges, d'au moins 50% en volume par rapport au volume total du deuxième système de solvants.
8. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que le deuxième système de solvants comprend une teneur en solvant choisi parmi les alcools de C2 à C4, le méthyl-tétrahydrofurane (MeTHF), et leurs mélanges d'au moins 60 %, en volume par rapport au volume total du deuxième système de solvants.
9. Procédé selon la revendication 7 ou 8, caractérisé en ce que le deuxième système de solvants est constitué d'alcools de C2 à C4, de MeTHF, ou d'un mélange de ceux-ci.
10. Procédé selon la revendication 7 ou 8, caractérisé en ce que le deuxième système de solvants comprend une teneur en un solvant choisi parmi les alcools de C2 à C4, et le MeTHF, d'au moins 75% en volume par rapport au volume total du deuxième système de solvants.
11. Procédé selon l'une quelconque des revendications 7 à 10, caractérisé en ce que les alcools de C2 à C4 sont choisis parmi l'éthanol, le n-propanol, l'iso-propanol, et le butanol.
12. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'huile végétale, l'huile provenant d'un micro-organisme ou le beurre végétal est choisi parmi l'huile de soja, de quinoa, de colza, de maïs, de tournesol, de sésame, de lupin, de coton, de noix de coco, d'olive, de palme, de germe de blé, de luzerne, d'avocat, de palmiste, d'arachide, de coprah, de lin, de ricin, de pépins de raisin, de pépins de courge, de pépins de cassis, de pépins de melon, de pépins de tomate, de pépins de citrouille, d'amande, de noisette, de noix, d'onagre, de bourrache, de carthame, de cameline, d'œillette, de macro-algues, de micro-algues, de micro-organismes marins, de microorganismes d'eau douce ou de microorganismes terrestres, de levures, de moisissures, de bactéries, le beurre de cacao, d'illipé, de karité, et leurs mélanges.

13. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 caractérisé en ce que le premier système de solvants est constitué d'un premier solvant choisi parmi les solvants aromatiques fluorés, et les solvants comprenant au moins un atome de silicium, et d'un deuxième solvant, choisi parmi les tert-butyl éthers.
- 5
14. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, caractérisé en ce que le tert-butyl éther est l'éthyl-tert-butyl-éther (ETBE).
- 10
15. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, caractérisé en ce que les solvants aromatiques fluorés sont choisis parmi le trifluorotoluène (BTF) et l'hexafluorobenzène (BHF).
16. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, caractérisé en ce que les solvants comprenant au moins un atome de silicium sont choisis parmi l'hexaméthylidisiloxane (HMDS) et le tétraméthylsilane (TMS).
- 15
17. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisé en ce que le premier système de solvants est constitué d'un ou plusieurs solvant(s) choisi parmi HMDS, le BHF et le BTF et d'un ou plusieurs solvant(s) choisi parmi le MTBE, et l'ETBE.
- 20
18. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisé en ce que le premier système de solvants est constitué par un tert-butyl éther.
19. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisé en ce que le premier système de solvants est constitué d'ETBE.
- 25
20. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 19, caractérisé en ce que l'insaponifiable obtenu est choisi parmi un insaponifiable de soja, un insaponifiable d'avocat, un insaponifiable d'avocat riche en fraction furanique, un insaponifiable d'avocat riche en fraction stérolique, et un mélange d'insaponifiables d'avocat et de soja (ASU).
- 30