



MINISTERE DES AFFAIRES ECONOMIQUES

NUMERO DE PUBLICATION : 1010702A3

NUMERO DE DEPOT : 09600885

Classif. Internat. : G01N

Date de délivrance le : 01 Décembre 1998

**Le Ministre des Affaires Economiques,**

Vu la Convention de Paris du 20 Mars 1883 pour la Protection de la propriété industrielle;

Vu la loi du 28 Mars 1984 sur les brevets d'invention, notamment l'article 22;

Vu l'arrêté royal du 2 Décembre 1986 relatif à la demande, à la délivrance et au maintien en vigueur des brevets d'invention, notamment l'article 28;

Vu le procès verbal dressé le 17 Octobre 1996 à 15H20 à l'Office de la Propriété Industrielle

**ARRETE :**

ARTICLE 1.- Il est délivré à : STATE OF ISRAEL, MINISTRY OF TRADE AND INDUSTRY, THE NATIONAL PHYSICAL LABORATORY  
Danciger A Building, Hebrew University Campus, JERUSALEM (ISRAEL)

représenté(e)(s) par : VAN CUTSEM Paul, GEVERS & VANDER HAEGHEN, Rue de Livourne 7, -B 1060 BRUXELLES.


un brevet d'invention d'une durée de 20 ans, sous réserve du paiement des taxes annuelles, pour : PROCEDE POUR LA DETERMINATION DE LA VALEUR ACIDE D'OLEAGINEUX ET JEU DE REACTIFS UTILISABLE DANS CE PROCEDE.

INVENTEUR(S) : Yaakov I. Turyan, 425/12, Neve Yaakov, Jerusalem (IL); Oleg Berezin, 14/7 Asher Golan Street, Jerusalem (IL); Ilya Kuselman, 29/5 Haim Pazner Street, Jerusalem (IL); Avinoam Shenhar, 4 Tiltan Street, Jerusalem (IL)

PRIORITE(S) 19.10.95 IL ILA 115677

ARTICLE 2.- Ce brevet est délivré sans examen préalable de la brevetabilité de l'invention, sans garantie du mérite de l'invention ou de l'exactitude de la description de celle-ci et aux risques et périls du(des) demandeurs(s).

Bruxelles, le 01 Décembre 1998  
PAR DELEGATION SPECIALE :

  
L. WUYTS  
CONSEILLER

Procédé pour la détermination de la valeur acide d'oléagineux et jeu de réactifs utilisable dans ce procédé

L'invention se rapporte à l'analyse d'oléagineux, en particulier à la détermination de la concentration totale des acides gras libres ou de la valeur acide (VA) dans des oléagineux. La valeur acide est exprimée en mg de KOH  
5 nécessaire pour le titrage d'acides gras libres contenus dans 1 g d'huile dans des oléagineux. La valeur acide est une caractéristique importante de la qualité des oléagineux.

Un jeu de réactifs pour l'extraction rapide et quantitative des acides gras libres à partir d'oléagineux est fourni par  
10 l'invention. La valeur acide peut être déterminée dans l'extrait par l'une quelconque des techniques connues (titrage, pH-métrie, chromatographie et autres). Le jeu est constitué de deux réactifs : A et B. Le réactif A permet l'extraction rapide (1-2 mn) et complète des acides gras  
15 libres et l'extraction partielle de certains autres acides. Le réactif B permet de séparer les acides gras libres d'autres acides pendant environ 5 minutes pour la détermination de la valeur acide.

Le standard international (ISO 659, 1988-02-15) pour la  
20 détermination de la valeur acide dans des oléagineux est basé sur l'extraction de l'huile ayant les acides gras libres par de l'hexane ou du pétrole léger, extraction qui prend du temps (4 heures et plus).

Le réactif de T.M. Lapshina et al., Zh. Anal. Khim., 46  
25 (1991) 1150 [80% de diéthyléther + 19% d'éthylalcoool + 1% d'eau (vol) contenant de la triéthanolamine 0,15-0,20 M] a permis de diminuer la durée d'extraction.

Cependant, l'extrait contenait non seulement des acides gras  
30 libres, mais également d'autres acides (probablement à partir de protéines). En conséquence, l'analyse a été menée

en limitant l'extraction à une minute de façon à obtenir la valeur acide proche de celle du procédé standard. Mais même en une minute, l'extraction d'autres acides par cette technique n'était pas complètement éliminée. Ce fait peut être une source d'erreurs positives et/ou d'une reproducti-  
5 bilité insuffisante.

Un autre réactif de la technique antérieure utilisé par W.E. May et al., JAOCS, 70 (1993) 229, était constitué de  $H_2SO_4$  0,01 M dans le solvant 78% d'isopropanol + 20% d'heptane +  
10 2% d'eau, vol. Après l'extraction pendant 15 minutes de l'heptane, de l'eau a été ajoutée et la valeur acide a été déterminée dans la couche d'heptane supérieure. Les auteurs cités ont observé des erreurs négatives dans les résultats de la détermination de la valeur acide (de 4 à 34 % rela-  
15 tifs).

Les inconvénients des réactifs connus sont :

1. le réactif dans le procédé standard (ISO 659, 1988-02-15) nécessite une longue durée d'extraction (4 heures et plus),
- 20 2. le réactif de T.M. Lapshina et al. [Zh. Anal. Khim., 46 (1991) 1150] ne peut pas garantir une extraction sélec- tive et reproductible des acides gras libres,
3. le réactif de W.E. May et al. [JAOCS, 70 (1993) 229] entraîne une extraction incomplète des acides gras  
25 libres.

Le but de la présente invention est de développer des réactifs dépourvus des inconvénients indiqués.

La présente invention concerne un procédé pour la détermination de la valeur acide d'oléagineux, remarquable en ce  
30 qu'il comprend les étapes suivantes :

- sécher un oléagineux pulvérisé,

- introduire l'échantillon d'oléagineux pulvérisé dans le réactif A comprenant une amine tertiaire, de l'eau, un alcool et un hydrocarbure, et agiter ce mélange pendant quelques minutes,
- 5 - ajouter au mélange le réactif B, qui comprend un acide fort et un sel dans de l'eau, et agiter le mélange, en transférant ainsi les acides gras libres dans la phase d'hydrocarbure supérieure, éliminer une aliquote de la phase supérieure et déterminer la valeur acide par des  
10 moyens usuels dans ladite aliquote.

L'invention se rapporte à un jeu de réactifs pour l'extraction rapide d'acides gras libres d'oléagineux pour le test de la valeur acide, qui est constitué de deux réactifs : A et B, dans lesquels, de préférence, le réactif A comprend  
15 une amine tertiaire dans un mélange d'eau, et de l'alcool et un hydrocarbure, l'alcool étant de l'isopropanol à des concentrations de 50 à 65% (vol.), l'hydrocarbure étant de l'heptane à une concentration d'environ 28 à 48% (vol.), l'amine étant de la triéthanolamine à des concentrations  
20 0,05 à 0,15 M, le réactif B comprenant un acide fort et un sel inorganique dans de l'eau, lequel acide fort est de préférence  $H_2SO_4$  à des concentrations d'environ 0,5 à 2,5 M, et le sel inorganique étant  $Na_2SO_4$  à des concentrations d'environ 1,3 à 1,5 M.

25 Le jeu de réactifs selon l'invention est constitué de deux réactifs : le réactif A et le réactif B. Le réactif A est un système à une phase contenant de la triéthanolamine 0,05-0,15 M dans le solvant : 50-65% d'isopropanol + 28-48% d'heptane + 1-7% d'eau (vol.). Le réactif B est constitué de  
30  $H_2SO_4$  0,5-2,5 M +  $Na_2SO_4$  1,3-1,5 M dans de l'eau.

La triéthanolamine dans le réactif A accélère l'extraction des acides. L'extraction complète des acides gras libres (avec extraction partielle d'autres acides) dans le réactif

A est menée pendant 1-2 minutes. Seulement dans certains cas, par exemple pour des graines de soja et de canola, l'extraction dans le réactif A est suffisamment rapide (1-2 minutes) sans triéthanolamine. Comme le réactif A extrait également, à partir d'oléagineux, d'autres acides, après l'extraction (solide-liquide), le réactif B est ajouté au système pour la réextraction (liquide-liquide) des acides gras libres seulement.

Par rapport à la technique antérieure [W.E. May et al., JAOCs, 70 (1993) 229], on peut voir que le premier réactif dans celle-ci était acide, mais le réactif A de l'invention est basique ou neutre. La séparation de phases dans l'art antérieur était réalisée par de l'heptane et de l'eau et, dans la technique de l'invention, par le réactif B incluant un acide et un sel inorganique. Il existe également différents nombres de phases à l'achèvement de la réextraction. Le système formé par l'art antérieur est constitué de deux phases : la phase inférieure d'isopropanol et d'eau et la phase supérieure d'heptane. Selon la présente invention, il existe trois phases : la phase inférieure d'eau et de sel, la phase médiane d'isopropanol, et la phase supérieure d'heptane.

Le différent nombre de phases et leur nature présentent une signification essentielle puisque, dans le cas du système à trois phases (la présente invention), la matière solide des oléagineux après la réextraction est localisée sur la frontière entre les phases inférieure et médiane, et cela améliore essentiellement la séparation de la phase supérieure d'heptane utilisée pour la détermination de la valeur acide.

La présence du sel  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  entraîne la formation de trois phases, et la concentration élevée de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (par rapport à la technique antérieure) mène à la réextraction complète des

acides gras libres dans la phase supérieure d'heptane. A une concentration de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  dans le réactif B de 1,3-1,5 M, le volume de la phase supérieure est égal au volume initial d'heptane. Si la concentration acide est inférieure à 0,5 M, la réextraction des acides gras libres est incomplète et, si elle est supérieure à 2,5 M, les valeurs acides obtenues sont plus grandes que celles déterminées par le procédé standard, probablement à cause de l'hydrolyse de triglycérides.

#### 10 **Utilisation de nouveaux réactifs pour la détermination de la valeur acide dans des oléagineux**

Une quantité exacte (2-5 g) d'oléagineux broyé et séché est introduite dans un cylindre Nessler, 35 ml du réactif A sont ajoutés, le cylindre est fermé et agité pendant 1-2 minutes. Puis 15 ml du réactif B sont ajoutés et agités. Le cylindre est abandonné pendant environ 5 mn tout en le faisant tourner de façon périodique pour une meilleure séparation des phases. La phase supérieure est retirée du cylindre et traitée avec du sulfate de magnésium ou de sodium sec pour l'élimination rapide d'une éventuelle opalescence. Une aliquote est prélevée pour la détermination de la valeur acide par le procédé pH-métrique (Ya.l. Tur'yan, O.Yu Berezin, I. Kuselman et A. Shenhar, demande de brevet israélien 110192, 01.07.94) ou par le procédé titrimétrique [ISO 660-1983 (E)], ou autre.

#### **EXEMPLES**

Des valeurs acides d'oléagineux commerciaux, tels que du tournesol, du soja et du canola, ont été déterminées. Dans un but de comparaison, des valeurs acides dans les échantillons d'oléagineux ont été tout d'abord déterminées par la technique standard (ISO 659, 1988-02-15). Les échantillons d'oléagineux ont été broyés dans un moulin à café. Un échantillon pesé de poudre a été placé dans un dé à coudre, extrait par du n-hexane dans un appareil Soxhlet pendant 4

heures. Le solvant a été éliminé dans un évaporateur rotatif sous vide pendant 1 heure. Le poids de l'extrait a servi pour la détermination de la teneur en huile dans les graines. La valeur acide de l'huile extraite a été déterminée  
5 par titrage conformément à la technique standard [ISO 660-1983 (E)]. Les résultats obtenus par ce moyen sont montrés dans le tableau.

Des échantillons d'oléagineux identiques ont été utilisés pour la détermination de la valeur acide par la nouvelle  
10 technique d'extraction. Après extraction, la valeur acide a été déterminée par analyse de la couche supérieure d'heptane soit par la technique pH-métrique (demande de brevet israélien 110192, 01.07.94) ou par un titrage non aqueux [ISO 660-1983 (E)].

15 **Exemple 1 : détermination de la valeur acide dans des graines de tournesol**

La teneur en huile dans des graines de tournesol utilisées pour l'analyse était P=51,9%. Un échantillon de graines broyées, 3,738 g, a été placé dans un cylindre Nessler. Le  
20 réactif A, 35 ml, a été ajouté dans le cylindre. Le tube fermé a été agité vigoureusement pendant 1 minute. Puis 15 ml du réactif B ont été ajoutés dans le cylindre. Le cylindre a été à nouveau agité vigoureusement et abandonné pendant 5 minutes. La phase supérieure a été retirée avec  
25 une pipette et placée dans un tube de test, et une petite quantité de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  sec a été ajoutée au tube.

La valeur acide a été déterminée par la technique pH-métrique. A 50 ml du réactif (triéthanolamine 0,2 M en solution isopropanol : eau = 1:1 avec  $\text{pH}'_0=11,35$ ), 8 ml de la phase  
30 supérieure ont été ajoutés ; une valeur de pH stable a été mesurée :  $\text{pH}'_1=10,27$  ; puis 0,4 ml de HCl 0,1 N (addition standard) a été ajouté à la solution et le pH a été à

nouveau mesuré :  $\text{pH}'_2 = 9,94$ . La valeur acide a été calculée en utilisant l'équation :

$$\text{VA} = 56,11 V_{\text{HCl}} N_{\text{HCl}} V_0 100/\text{GV} [10^{(\text{pH}'_1 - \text{pH}'_2)} - 1] P, \quad (1)$$

dans laquelle 56,11 est la masse moléculaire de KOH ;

- 5 -  $V_{\text{HCl}}$  est le volume de l'addition standard de HCl, dans l'exemple  $V_{\text{HCl}} = 0,4$  ml ;
- $N_{\text{HCl}}$  est la concentration de HCl, dans l'exemple  $N_{\text{HCl}} = 0,1$  M ;
- $V_0$  est le volume de la couche supérieure d'heptane,  $V_0 = 15$  ml ;
- 10 - G est le poids de l'échantillon d'oléagineux, g ;
- P est la teneur en huile, % ;
- V est l'aliquote de la couche supérieure d'heptane pour l'analyse, ml.

15 Le résultat du calcul était  $\text{VA} = 1,90$  mg de KOH/1 g d'huile.

### Exemple 2 : détermination de la valeur acide dans du soja

La teneur en huile dans du soja utilisé pour l'analyse était  $P = 18,9\%$ . Un échantillon de soja, 4,009 g, a été placé dans un cylindre Nessler. L'extraction des acides gras libres et l'isolation de la couche supérieure d'heptane étaient les mêmes que dans l'exemple 1. La détermination de la valeur acide dans ce cas a été réalisée également par la technique pH-métrique. Pour une aliquote de phase supérieure de 8 ml,  $\text{pH}'_1 = 10,64$  a été mesuré et, après addition standard de 0,2 ml de HCl 0,1 M,  $\text{pH}'_2 = 10,29$ . La valeur acide a été calculée conformément à la formule (1). Le résultat du calcul était  $\text{VA} = 1,93$  mg de KOH/1 g d'huile.

### Exemple 3 : détermination de la valeur acide dans des graines de canola

30 La teneur en huile dans des graines de canola utilisées pour l'analyse était  $P = 41,5\%$ . L'échantillon d'oléagineux broyé,

4,112 g, a été placé dans un cylindre Nessler. L'extraction des acides gras libres, l'isolation de la phase supérieure étaient les mêmes que dans l'exemple 1. L'analyse de la valeur acide dans la phase supérieure a été réalisée par le titrage non aqueux. Une aliquote  $V=5$  ml de la phase supérieure a été ajoutée à 40 ml d'un mélange neutralisé alcool éthylique : diéthyléther = 1:1 et titrée par une solution alcoolique de KOH ( $N_{\text{KOH}} = 0,0284$  M) en présence de phénolphtaléine. La valeur acide a été calculée en utilisant la formule

$$VA = 56,11 V_{\text{KOH}} N_{\text{KOH}} V_o 100/G V P, \quad (2)$$

dans laquelle  $V_{\text{KOH}}=0,94$  ml est le volume de la solution de KOH qui a été utilisée pour la neutralisation des acides gras libres. Le résultat du calcul était  $VA=2,42$  mg de KOH/1 g d'huile.

#### PRÉCISION ET EXACTITUDE DES DÉTERMINATIONS DE LA VALEUR ACIDE

La précision et l'exactitude des résultats des déterminations de la valeur acide en utilisant les nouveaux réactifs étaient semblables à celles pour la technique standard [ISO 659, 1988-02-15 ; 660-1983 (E)].

Dans le tableau, il est montré les résultats moyens obtenus par les techniques nouvelle et standard à partir de  $n = 5$  doubles (déterminations parallèles) pour chaque,  $VA_s$  et  $VA_p$  respectivement ; des déviations standards de ces doubles,  $S_s$  et  $S_p$ , respectivement ; le rapport  $F=S_p^2/S_s^2$  et le rapport  $t = (VA_s - VA_p) / [(S_s^2 + S_p^2)/5]^{0,5}$ . Les détails des expériences sont décrits ci-dessus (voir "exemples").

#### Tableau

30 Comparaison des résultats de la détermination de la valeur acide (mg de KOH/1 g d'huile) par la technique standard et par la nouvelle technique.

Oléagineux	VA <sub>p</sub>	S <sub>p</sub>	VA <sub>s</sub>	S <sub>s</sub>	F	t
Tournesol	1,66	0,21	1,69	0,19	1,21	0,30
Soja	1,97	0,07	2,06	0,15	2,00	1,16
Canola	2,67	0,07	2,60	0,13	1,87	1,13

5 La valeur critique du rapport F est 6,39 au taux de confiance de 5% et le nombre de degrés de liberté  $n-1=4$ . Pour le rapport t, la valeur critique est 2,31 au taux de confiance de 5% et de  $2(n-1)=8$  degrés de liberté. A partir de la comparaison des données F avec la valeur critique, il

10 s'ensuit que la différence entre la précision des résultats obtenus par les techniques standard et proposée n'est pas significative (toutes les valeurs F sont inférieures à la valeur critique). L'exactitude pour ces techniques est

15 approximativement la même dans la mesure où les déviations des résultats moyens obtenus par la technique proposée (VA<sub>p</sub>) à partir des résultats moyens obtenus par la technique standard (VA<sub>s</sub>) sont insignifiantes en comparaison avec les erreurs aléatoires : toutes les valeurs t sont inférieures à 2,31.

#### 20 AVANTAGES DU NOUVEAU RÉACTIF ET SON UTILISATION

Les avantages principaux du jeu suggéré de réactifs pour l'extraction d'acides gras libres à partir d'oléagineux dans le but de déterminer la valeur acide consistent en un temps d'extraction court (moins d'environ 10 minutes) conservant

25 l'exactitude et la reproductibilité de la détermination de la valeur acide au niveau requis.

REVENDEICATIONS

1. Procédé pour la détermination de la valeur acide d'oléagineux,  
caractérisé qu'il comprend les étapes suivantes :
- sécher un oléagineux pulvérisé,
  - 5 - introduire l'échantillon d'oléagineux pulvérisé dans le réactif A comprenant une amine tertiaire, de l'eau, un alcool et un hydrocarbure, et agiter ce mélange pendant quelques minutes,
  - ajouter au mélange le réactif B, qui comprend un acide  
10 fort et un sel inorganique dans de l'eau, et agiter le mélange, en transférant ainsi les acides gras libres dans la phase supérieure d'hydrocarbure, retirer une aliquote à partir de la phase supérieure et déterminer la valeur acide par des moyens usuels dans ladite aliquote.
- 15 2. Procédé selon la revendication 1,  
caractérisé en ce que l'alcool dans le réactif A est de l'isopropanol à une concentration d'environ 50 à 65% en volume.
- 20 3. Procédé selon la revendication 1 ou 2,  
caractérisé en ce que l'hydrocarbure dans le réactif A est de l'heptane à une concentration d'environ 28 à 48% en volume.
- 25 4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3,  
caractérisé en ce que l'amine tertiaire dans le réactif A est la triéthanolamine à une concentration d'environ 0,05 à environ 0,15 M.
- 30 5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4,  
caractérisé en ce que le réactif B comprend de l'acide sulfurique à une concentration d'environ 0,5 à environ 2,5 M.

6. Procédé selon la revendication 1 ou 5, caractérisé en ce que le sel inorganique dans le réactif B est du sulfate de sodium à une concentration d'environ 1,3 à environ 1,5 M.
- 5 7. Jeu de réactifs pour réaliser un test comme revendiqué dans l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce qu'il comprend un jeu du réactif A et du réactif B, comme défini.
- 10 8. Jeu de réactifs selon la revendication 7, caractérisé en ce que les composants dudit jeu sont comme définis dans l'une quelconque des revendications 1 à 6.



Office européen  
des brevets

**RAPPORT DE RECHERCHE**  
établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2  
de la loi belge sur les brevets d'invention  
du 28 mars 1984

Numero de la demande  
nationale

BO 6433  
BE 9600885

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.CI.6)
D,A	LAPSHINA T M ET AL: "PH-METRIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF ACID NUMBERS OF OILS" JOURNAL OF ANALYTICAL CHEMISTRY OF USSR, vol. 46, juin 1991, pages 833-840, XP000616741 ---	1-8	G01N33/03
A	US 4 288 402 A (ELLIS) * le document en entier *	1-8	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CI.6) G01N
A	DATABASE WPI Week 9232 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 92-267036 [32] XP002051116 & SU 1 688 158 A (KRASD POLY) , 30 octobre 1991 * abrégé *	1-8	
A	DATABASE WPI Week 9445 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 94-365141 [42] XP002051117 & SU 1 825 423 A (LAPSHINA T M) , 30 juin 1993 * abrégé *	1-8	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
30 décembre 1997		Bosma, R	
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES			
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 antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

1

EPO FORM 1503 03.82 (P04C48)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE  
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET BELGE NO.**

BO 6433  
BE 9600885

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche visé ci-dessus.  
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du  
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

30-12-1997

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 4288402 A	08-09-81	AUCUN	

EPO FORM P0463

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82