



CONFÉDÉRATION SUISSE

OFFICE FÉDÉRAL DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

⑤① Int. Cl.<sup>3</sup>: C 07 H

15/04

**Brevet d'invention délivré pour la Suisse et le Liechtenstein**

Traité sur les brevets, du 22 décembre 1978, entre la Suisse et le Liechtenstein

⑫ **FASCICULE DU BREVET** A5

⑪

**637 142**

⑮① Numéro de la demande: 8212/78

⑮② Date de dépôt: 01.08.1978

⑮③ Priorité(s): 01.08.1977 JP 52-92428

⑮④ Brevet délivré le: 15.07.1983

⑮⑤ Fascicule du brevet  
publié le: 15.07.1983⑮⑦ Titulaire(s):  
Kao Soap Company, Limited, Chuo-ku/Tokyo  
(JP)⑮⑦ Inventeur(s):  
Shigeo Inoue, Minamisaitama-gun/Saitama-ken  
(JP)  
Yoshiharu Kimura, Funabashi-shi/Chiba-ken  
(JP)  
Manzo Kinta, Funabashi-shi/Chiba-ken (JP)⑮⑦ Mandataire:  
Kirker & Cie SA, Genève**⑮④ Procédé de purification par déshydratation destiné à un produit de fermentation.**

⑮⑦ Le sophorolipide hydraté, qui est un produit de fermentation de *Torulopsis bombicola*, est soumis à un traitement de déshydratation. On opère en présence d'un glycol ou d'un monoéther de glycol pour abaisser la viscosité. On obtient une solution utile pour la préparation d'esters d'alcools polyhydroxylés avec des acides gras hydroxylés, qui sont eux-mêmes des intermédiaires dans la synthèse de muscs à structure lactonique à grand cycle.



- I-a :  $R_1 = R_2 = \text{COCH}_3$   
 I-b :  $R_1 = \text{COCH}_3, R_2 = \text{H}$   
 I-c :  $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{COCH}_3$   
 I-d :  $R_1 = R_2 = \text{H}$   
 II-a :  $R_1 = R_2 = \text{COCH}_3$   
 II-b :  $R_1 = \text{COCH}_3, R_2 = \text{H}$   
 II-c :  $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{COCH}_3$   
 II-d :  $R_1 = R_2 = \text{H}$

$R_3$  et  $R_4$  ayant les significations données dans la revendication 1.

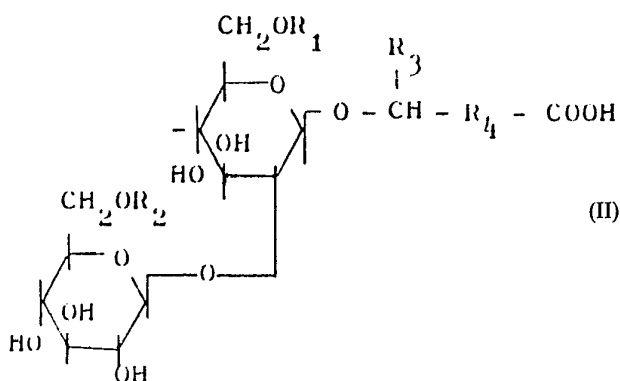
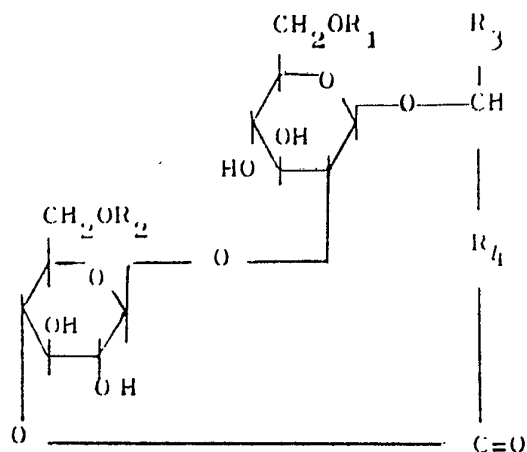
3. Procédé selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que  $R_8$  et  $R_9$  représentent un atome d'hydrogène ou un groupe méthyle, et en ce que  $m$  est un nombre entier de 1 à 3 dans la formule (III).

4. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce qu'on ajoute l'alcool polyhydroxylé dans une proportion allant de 1 à 10% en poids.

Cette invention concerne un procédé de purification par désydratation destiné à un produit de fermentation, en particulier un procédé de purification destiné à produire le sophorolipide ou un de ses dérivés avec une viscosité plus faible, qui consiste à purifier par désydratation le sophorolipide ou un de ses dérivés secondaires, qui est un produit de fermentation du *Torulopsis bombicola* (ATCC N° 22214).

Il fut rapporté par J.F.T. Spencer et coll. [«Canadian Journal of Chemistry», 39, 846 (1961)] qu'une grande quantité de sophorolipide était produite dans le liquide de fermentation par la culture du *Torulopsis bombicola*.

Le sophorolipide est considéré comme étant un mélange des composés représentés par les formules (I) et (II):



- I-a :  $R_1 = R_2 = \text{COCH}_3$   
 I-b :  $R_1 = \text{COCH}_3, R_2 = \text{H}$   
 I-c :  $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{COCH}_3$   
 I-d :  $R_1 = R_2 = \text{H}$   
 II-a :  $R_1 = R_2 = \text{COCH}_3$   
 II-b :  $R_1 = \text{COCH}_3, R_2 = \text{H}$   
 II-c :  $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{COCH}_3$   
 II-d :  $R_1 = R_2 = \text{H}$

dans lesquelles  $R_3$  représente un atome d'hydrogène ou un groupe méthyle,  $R_4$  représente un groupe hydrocarboné saturé ou insaturé possédant 12 à 16 atomes de carbone lorsque  $R_3$  est un atome d'hydrogène, et  $R_4$  représente un groupe hydrocarboné saturé ou insaturé possédant 11 à 15 atomes de carbone lorsque  $R_3$  est un groupe méthyle.

Ces composés sont utiles en tant qu'agents de nettoyage et émulsifiants ayant d'excellentes propriétés hygroscopiques et hydrophiles dues aux groupes sophorose et des propriétés hydrophobes venant de l'acide gras.

En particulier, les propriétés hygroscopiques dues au groupe sophorose et sa capacité d'englober venant de l'acide gras en font un agent mouillant doué d'excellentes propriétés, et qui, en plus, est adapté à la physiologie de la peau.

Cependant, le sophorolipide est un mélange de plusieurs homologues. Par exemple, lorsque la fermentation est conduite en prenant l'octadécane comme source d'hydrocarbure, le produit se compose d'environ 40% de (I-a), environ 8% de (I-b) et (I-c), environ 30% de (II-a), environ 6% de (II-b) et (II-c), environ 14% d'un isomère résultant de la position de la liaison lactone, et d'une petite quantité de (I-d) et (II-d). Les proportions dans lesquelles ces homologues se forment varient selon la source d'hydrocarbures et les conditions de fermentation.

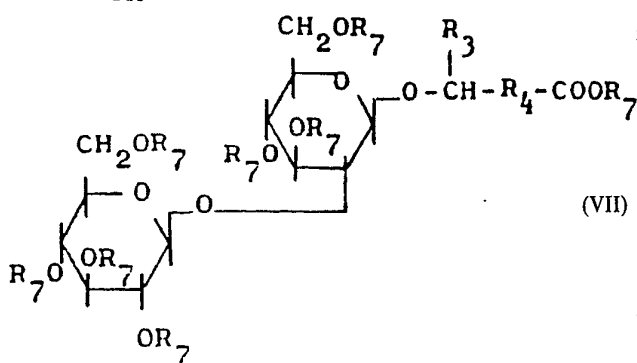
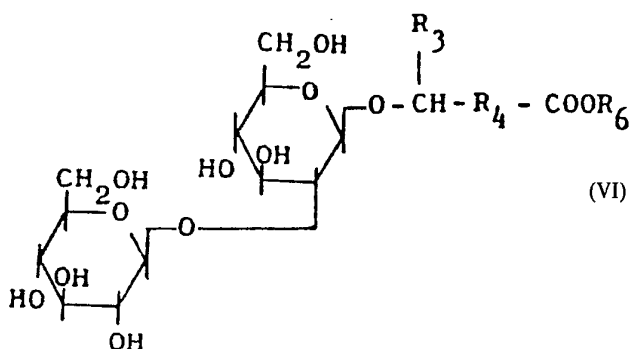
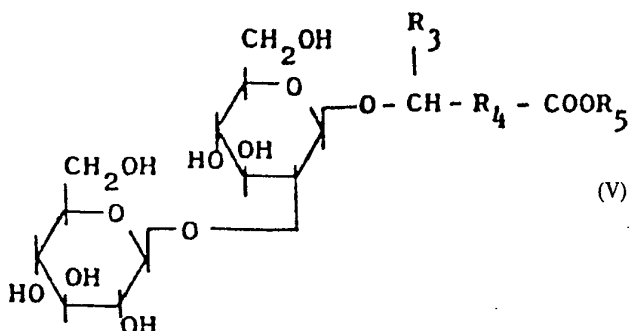
Comme on peut le voir d'après les structures ci-dessus, les composés de formule (I) diffèrent des composés de formule (II) par l'existence ou l'inexistence d'un groupement acide gras. En conséquence, le nombre de groupes oxydrides dans le groupe sophorose et les valeurs d'acétylation qui en découlent diffèrent de l'une à l'autre. Ces différences de structure impliquent des différences dans les propriétés physico-chimiques. Ainsi, la solubilité dans un solvant organique et dans l'eau et les propriétés tensio-actives varient selon les structures. Par exemple, le composé de formule (I-a) possède des propriétés huileuses et est peu soluble dans l'eau, et les composés de formules (I-b) et (I-c) ont en quelque sorte un caractère émulsifiant, alors que le composé de formule (I-d) est facilement soluble dans l'eau et a des propriétés nettoyantes avec un HLB élevé. Le composé de formule (II-a) s'émulsifie et se disperse dans l'eau et est lui-même un excellent émulsifiant. Les composés de formules (II-b) et (II-c) sont facilement solubles dans l'eau et possèdent un pouvoir nettoyant avec des propriétés moussantes. Le composé de formule (II-d) remplit sa fonction de nettoyant avec un HLB de 30 à 40, qui n'est pas inférieur à celui d'un agent tensio-actif anionique ni d'un nettoyant non ionique.

Par conséquent, on doit prendre en considération le fait que les propriétés et les fonctions varient avec les proportions des homologues, car on emploie en fait un ensemble de ces homologues. De plus, la difficulté surgit lorsqu'il faut fabriquer un produit de composition en homologues donnée par un procédé de fermentation.

Les liaisons acétyle et lactone dans le sophorolipide sont chimiquement instables et facilement rompues en milieu faiblement alcalin (pH 9-10) à température ambiante. Cette rupture est également favorisée en milieu acide minéral. Même au voisinage de la neutralité, les deux liaisons sont graduellement hydrolysées par chauffage ou pendant un entreposage prolongé, de sorte que le sophorolipide est finalement converti en le composé de formule (II-d).

Cependant, le squelette carboné principal du sophorolipide est l'acide L-[(2'-O-β-D-glucopyrannosyl-β-D-glucopyrannosyl)oxy]-alcanoïque ou -alcénoïque qui se forme par combinaison du sophorose et d'un acide gras hydroxylé par liaison éther-glycosyle, et est chimiquement stable.

En conséquence, différents dérivés secondaires du sophorolipide ont été produits; leurs qualités et leurs performances sont bonnes et stables. Les composés représentatifs de ce type sont les suivants:



où  $R_5$  représente un atome d'hydrogène ou un groupe méthyle,  $R_6$  représente un groupe alcoyle possédant 2 à 20 atomes de carbone,  $R_7$  représente un groupe hydroxylalcoyle possédant 2 à 5 atomes de carbone, et  $R_3$  et  $R_4$  ont les mêmes significations que ci-dessus.

Les défauts évoqués plus haut ne se rencontrent plus dans ces dérivés secondaires qui sont stables. Cependant, la production de ces composés est accompagnée de divers problèmes. Car, en fait, seul le sophorolipide contenant 40 à 50% d'eau est obtenu à partir du liquide de fermentation en culture oblique. Cependant, l'existence d'eau inhibe la réaction, empêche la conversion en dérivés secondaires et fournit des sous-produits. Par exemple, lorsque le sophorolipide est soumis à une réaction de méthanolyse avec un catalyseur acide en présence d'eau, de manière à obtenir le composé de formule (V), seul un mélange des composés de formule (V) et (II-d) est produit et on ne peut pas obtenir de substance unique.

Aucun solvant, à l'exception de l'acétate d'éthyle, n'a été trouvé capable d'extraire efficacement le sophorolipide de la solution de sophorolipide obtenue à partir du liquide de fermentation ou en culture oblique, car le sophorolipide est un ensemble de nombreux homologues qui ont des solubilités très différentes dans les solvants organiques.

Ainsi, l'extraction est, au plus, de 80% avec l'acétate d'éthyle et la présence d'eau est inévitable, car l'acétate d'éthyle lui-même contient 5 à 10% d'eau. Même si l'eau pouvait être éliminée à l'aide d'un agent déshydratant, la préparation des dérivés secondaires serait impossible dans l'acétate d'éthyle car le solvant lui-même

réagit sur le produit. C'est pourquoi le solvant doit être complètement éliminé par distillation.

Cependant, l'élimination complète de l'eau ou d'un solvant est presque impossible industriellement, car le sophorolipide et ses dérivés secondaires sont des substances extrêmement visqueuses comme le montre le tableau I.

(Tableau en tête de la page suivante)

Tenant compte de cette situation, les présents inventeurs ont effectué des études très diverses sur la réduction de la viscosité du sophorolipide et de ses dérivés secondaires. Afin de réduire la viscosité, les substances ajoutées auront de préférence les propriétés suivantes:

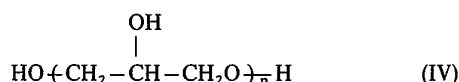
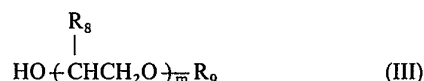
1. bonne miscibilité avec le sophorolipide ou ses dérivés secondaires;
2. existence sous forme liquide à température ambiante;
3. diminution sensible de la viscosité en présence d'une faible quantité;
4. point d'ébullition plus élevé que celui de l'eau;
5. produits non réactifs, ou moins réactifs que les agents de réaction;
6. non-inhibition des propriétés du produit désiré même si elles possèdent une certaine réactivité;
7. sécurité pour le corps humain et autres.

Les présents inventeurs ont étudié un grand nombre de substances diverses et en ont conclu que les alcools polyhydroxylés sont dotés des propriétés désirées plus haut et que ces alcools donnaient de bons résultats.

C'est à partir de ces découvertes que l'invention a été mise au point.

Cette invention fournit un procédé de purification par déshydratation destiné à un produit de fermentation qui consiste à ajouter une ou plusieurs sortes d'alcools polyhydroxylés représentés par les formules générales (III) et (IV) suivantes au sophorolipide hydraté ou à un de ses dérivés secondaires, qui est un produit de fermentation du *Torulopsis bombicola*, à éliminer l'eau par distillation sous pression réduite, et à obtenir une solution de sophorolipide ou d'un de ses dérivés secondaires possédant une viscosité réduite.

Les alcools polyhydroxylés concernés par la présente invention sont représentés par les formules générales (III) et (IV) suivantes:



dans lesquelles  $R_8$  représente un atome d'hydrogène ou un groupe méthyle,  $R_9$  représente un atome d'hydrogène ou un groupe alcoyle possédant 1 à 5 atomes de carbone, et  $m$  et  $n$  sont des nombres entiers compris entre 1 et 6.

Lesdits alcools polyhydroxylés comprennent, par exemple, l'éthylèneglycol, l'éther monométhylque de l'éthylèneglycol, l'éther monoéthylque de l'éthylèneglycol, l'éther monopropylque de l'éthylèneglycol, le diéthylèneglycol, l'éther monométhylque du diéthylèneglycol, l'éther monoéthylque du diéthylèneglycol, l'éther monobutylque du diéthylèneglycol, le polyéthylèneglycol ayant une masse moléculaire moyenne inférieure à 300, le propylèneglycol, le dipropylèneglycol, le tripropylèneglycol, le tétrapropylèneglycol, le pentapropylèneglycol, l'hexapropylèneglycol, l'éther monométhylque du propylèneglycol, l'éther monoéthylque du propylèneglycol, l'éther monobutylque du propylèneglycol, l'éther monométhylque du dipropylèneglycol, l'éther monoéthylque du dipropylèneglycol, l'éther monométhylque du tripropylèneglycol, copolymère en masse de l'éthylèneglycol et du propylèneglycol ayant une masse moléculaire moyenne inférieure à 360, et les analogues parmi les produits représentés par la formule (III), et, par exemple, la glycérine, la polyglycérine et les analogues parmi les composés représentés par la formule (IV).

Tableau 1

Viscosité du sophorolipide et de ses dérivés secondaires

Température (°C)	Sophorolipide			Dérivés secondaires			
	Eau contenue (14,1%)	Eau contenue (5,3%)	Eau contenue (0,4%)	Composé (II-d)	Composé (V) (R <sub>5</sub> = CH <sub>3</sub> )	Composé (VI) (R <sub>6</sub> = C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> )	Composé (VII) (R <sub>7</sub> = CH <sub>3</sub>   -CH <sub>2</sub> CHOH)
20	> 100 000	> 100 000	> 100 000	> 100 000	> 100 000	> 100 000	> 100 000
60	320	1 900	63 000 (65 °C)	> 100 000	> 100 000	> 100 000	4 300
80	150	1 350	20 000	> 100 000	38 000	12 000	1 400

N. B. Ces valeurs sont celles de la viscosité (en cPo) mesurée avec un viscosimètre de type B, fabriqué par Tokyo Keiki Co., Ltd.

Ces alcools polyhydroxylés possèdent une bonne miscibilité avec le sophorolipide et ses dérivés secondaires. L'addition de ces alcools provoque un abaissement sensible de la viscosité du sophorolipide et de ses dérivés, comme le montre le tableau 2.

L'addition d'une quantité égale ou supérieure à 1% en poids produit un abaissement suffisant de la viscosité; la quantité maximale n'a pas à être spécifiquement limitée, mais on préfère toutefois une proportion de 1 à 10% en poids.

Pour mettre en œuvre la présente invention, on ajoute une ou plusieurs sortes d'alcools polyhydroxylés au sophorolipide hydraté ou à l'un de ses dérivés secondaires, puis l'eau est complètement éliminée par distillation sous pression réduite à l'aide d'un appareil à éliminer la fraction de tête habituel. Par la même occasion, les impuretés malodorantes qui possèdent un point d'ébullition plus bas et qui sont contenues dans la matière brute sont éliminées par distillation en même temps.

La solution de sophorolipide et de ses dérivés secondaires dans l'alcool polyhydroxylé ainsi obtenue ne contient maintenant absolument plus d'eau et voit sa viscosité réduite à l'extrême. Par conséquent, grâce à cette solution, d'autres dérivés peuvent facilement être produits. Par exemple, les esters d'alcool polyhydroxylé et d'acide gras hydroxylé qu'on utilise comme matières premières pour la synthèse d'une lactone musquée à grand cycle utilisée en parfumerie peuvent facilement être obtenus par une réaction d'alcoololyse en ajoutant un catalyseur acide à la solution de sophorolipide dans l'alcool polyhydroxylé.

Cette invention est illustrée d'une manière plus détaillée par les exemples ci-dessous, qui ne sont nullement limitatifs.

#### Exemple 1:

i) A un mélange de 1500 g de glucose, 75 g d'extrait de levure et 15 g d'urée, de l'eau fut ajoutée pour avoir un volume total de 15 l et le mélange résultant fut stérilisé et utilisé comme liquide de fermentation. Ce liquide de fermentation fut inoculé avec *Torulopsis bombicola*, qui avait été cultivé en culture oblique en milieu de YM agar, et le mélange fut soumis à la fermentation à 20° C, avec une agitation de 300 tr/min et une aération de 0,33 VVM. Le mélange fut cultivé pendant 24 h après l'inoculation et on y ajouta 10 g/l d'octadécane. Ensuite, l'octadécane fut ajouté dans les mêmes proportions à intervalles de 24 h et la quantité totale s'éleva à 900 g. Après la dernière addition d'octadécane, le mélange fut encore soumis à la fermentation pendant 24 h. La durée totale de la fermentation fut de 168 h. La couche de sophorolipide précitée au fond du fermenteur fut recueillie par décantation pour donner 1800 g de sophorolipide ayant une viscosité d'environ 1500 cPo à 30° C et contenant 45% d'eau.

ii) 70 g du sophorolipide ainsi obtenu furent placés dans un ballon de 100 ml équipé d'un agitateur et d'un condenseur Liebig. Le mélange fut soumis à l'évaporation à 80° C dans un bain d'huile, avec agitation, sous une pression réduite de 250 mmHg pour éliminer l'eau. D'autre part, à ce sophorolipide et à l'un de ses dérivés, on ajouta une série d'alcools polyhydroxylés dont la liste figure dans le tableau 2, dans des proportions de 5,0 et 10,0% en poids, et les mêmes opérations que ci-dessus furent répétées pour éliminer l'eau.

Dans le cas du sophorolipide seul, la viscosité augmenta au fur et à mesure que l'eau s'évaporait, et l'agitation devint impossible lorsque la teneur en eau devint inférieure à 5%. A ce stade, le sophorolipide ne pouvait plus être retiré du récipient. Au contraire, dans les cas où on avait ajouté les alcools polyhydroxylés, la teneur en eau fut trouvée égale à 0,4-0,6% (mesurée par la méthode de Karl Fischer) après environ 120 min. Dans chaque cas, la fluidité était bonne. Les viscosités furent mesurées à l'aide d'un viscosimètre de type B à 80° C et les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 2.

Les composés de formules (V), (VI) et (VII) furent préparés de la manière suivante.

#### a) Préparation du composé (V):

A 50 g de l'échantillon de sophorolipide ainsi obtenu par addition d'alcool polyhydroxylé, on ajouta 350 g de méthanol puis de l'acide sulfurique. On laissa réagir le mélange entre 40 et 43° C pendant environ 60 min. Lorsque la réaction fut terminée, le mélange fut neutralisé avec de l'hydroxyde de potassium et le sulfate de potassium précipité fut éliminé par filtration. Le solvant fut évaporé pour obtenir le composé de formule (V).

#### b) Préparation du composé (VI):

A l'échantillon obtenu par le procédé a, on ajouta de l'alcool oléique, puis une solution d'hydroxyde de potassium dans le méthanol pour obtenir une solution homogène qui fut soumise à une réaction de transestérification à 60° C, sous 150 à 500 mmHg, avec une colonne moléculaire du type à couche mince, pour obtenir le composé de formule (VI).

#### c) Préparation du composé (VII):

Au composé (V) on ajouta de l'eau et de l'éthanol puis de l'hydroxyde de potassium; le mélange résultant fut chauffé sous reflux pour hydrolyser le composé (V) et l'éthanol ainsi que le méthanol formé furent éliminés par distillation. L'eau fut éliminée par distillation à 60° C sous 70 à 100 mmHg pour obtenir le sel de potassium du composé (II-d), auquel on ajouta une certaine quantité d'oxyde de propylène, puis le mélange résultant fut chauffé pour effectuer la réaction et obtenir le composé de formule (VII).

Tableau 2

Alcool polyhydroxylé	Viscosité (cPo, 80°C)									
	Addition de 2,5% en poids					Addition de 5,0% en poids				
	SL	II-d	V	VI	VII	SL	II-d	V	VI	VII
Ethylèneglycol	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Ether monométhylque de l'éthylèneglycol	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A
Ether monoéthylque de l'éthylèneglycol	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A
Ether monopropylque de l'éthylèneglycol	B	B	B	A	A	A	B	B	A	A
Diéthylèneglycol	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Ether monométhylque du diéthylèneglycol	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A
Ether monoéthylque du diéthylèneglycol	A	B	B	B	A	A	A	A	A	A
Ether monobutylque du diéthylèneglycol	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A
Polyéthylèneglycol (P.M. 150)	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A
Polyéthylèneglycol (P.M. 280)	C	C	C	B	A	B	B	B	A	A
Propylèneglycol	B	C	B	B	A	A	A	A	A	A
Ether monométhylque du propylèneglycol	C	D	C	C	A	A	B	B	A	A
Ether monoéthylque du propylèneglycol	C	D	C	C	A	A	B	B	A	A
Ether monobutylque du propylèneglycol	C	D	C	C	A	A	B	B	A	A
Dipropylèneglycol	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A
Ether monométhylque du dipropylèneglycol	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A
Ether monoéthylque du dipropylèneglycol	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A
Tripropylèneglycol	B	C	B	A	A	A	B	A	A	A
Polypropylèneglycol (P.M. 200)	B	C	B	A	A	A	A	A	A	A
Polypropylèneglycol (P.M. 400)	C	D	D	B	A	B	C	B	B	A
Polypropylèneglycol (P.M. 600)	D	D	D	C	B	B	C	C	A	A
Glycérine	C	D	C	B	A	B	C	B	A	A
Polyglycérine	C	D	C	B	A	B	C	B	A	A
Ether mono-2'-hydroxypropylque de l'éthylèneglycol	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Polymère en masse d'éthylèneglycol et de propylèneglycol (P.M. 240)	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A
Polymère en masse d'éthylèneglycol et de propylèneglycol (P.M. 480)	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A

SL désigne le sophorolipide obtenu en i.

Ordre de grandeur de la viscosité: A: &lt; 500 cPo

B: 500-1000 cPo

C: 1000-2500 cPo

D: 2500-5000 cPo