

Conférence Chevreul

Voies inhabituelles de synthèse de composés oléophiles à partir des substrats végétaux solides (graines oléoprotéagineuses), liquides (huiles végétales et dérivés, glycérol) pour l'industrie chimique

Zéphirin MOULOUNGUI

ENSIACET – UMR 1010

Unité chimie agro-industrielle-UCAI

INRA/INP-ENSIACET

118, route de Narbonne,

31077 Toulouse Cedex 4

<Zephirin.Mouloungui@ensiacet.fr>

Abstract: In this study two major strategy of transformation of the vegetables substrate are exposed. The first approach is related to the study of the catalytic heterocyclisation of natural glycerin in the glycerol carbonate. The system glycerol/glycerol carbonate constitutes a reactional medium of synthon generation and chemical compounds with skeleton of multipurpose glyceric. Glycerol carbonate is a molecule of first generation of the glycerol, it is conceived in natural media as a new chemistry which makes it possible to reinject glycerol in existing or new industry from the original procedure by the way of chemical means.

The second approach regards the oleaginous seeds, as substrate *in vitro* or as microreactor *in vivo*. This marks a technological breakage compared to the model and traditional process of preparation of oleochemical bases. In this matter it seems possible to obtain the fatty acids, fatty esters, directly from the oleaginous seeds by interaction between lipids and functional enzymes. This quantitative experimental approach produces the free hydrophobic moiety and guarantees the multifunctional oleophilic compounds from the renewable oleochemistry.

Key words: glycerol, glycerol carbonate, monoglyceride, fatty acids, fatty esters, oleaginous seeds

Contexte

En ce jour de remise de la Médaille Chevreul, la chimie négocie un tournant dans la conquête de son image de fournisseurs d'objets utiles pour la société, aujourd'hui galvaudée auprès du grand public, par le biais de la « chimie verte ou chimie durable ». L'essentiel du contenu de ce nouveau concept consisterait à développer des procédés respectueux de l'environnement fournissant des produits aux propriétés nouvelles pour remplacer les réactions chimiques traditionnelles qui utilisent les solvants organiques dangereux, consomment beaucoup d'énergie et génèrent des déchets, sous-produits polluants et indésirables [1, 2].

L'un des principes de la chimie verte est de faire usage de ressources renouvelables en tant que matières premières. Les huiles et graisses naturelles des plantes oléoprotéagineuses répondent à ce principe. Rappelons que c'est grâce à Eugène Chevreul [3] que nous savons avec certitude que ces substances naturelles sont des lipides essentiellement constitués par des triglycérides qui sont des composés élaborés par combinaison d'acides gras et de glycérol. Ces deux molécules sont au cœur de mes deux axes de recherche : la chimie en C3 du glycérol/carbonate de glycérol et la lipotrans-

formation *in planta*, *ex planta* et/ou *post planta*. La coïncidence est heureuse.

Intrant dans la genèse des triglycérides des huiles et graisses végétales, la glycérine est à l'opposé le sous-produit de l'oléochimie industrielle. Elle est cogénérée au cours des premières transformations des corps gras en savons, acides gras, alcools gras, esters gras, esters méthyliques biocarburants. En raison de leurs atouts techniques et environnementaux [4, 5], les esters méthyliques d'huiles végétales EMHV sont reconnus comme moyen de diversification des sources de biocarburants à l'échelle européenne [6].

L'accroissement de la production des EMHV biocarburants entraînera de façon concomitante une production massive de la glycérine. La glycérine apparaît comme une matière première disponible dont la diversification des utilisations est encouragée afin de rétablir, d'une part, l'équilibre entre l'offre et la demande des marchés et de ménager, d'autre part, les marchés des esters méthyliques et acides gras en forte expansion notamment en Europe et en Asie du Sud-Est [7]. Les travaux de recherche que nous menons depuis 1994 sur la chimie du glycérol répondent à ces attentes [8]. Ils ont pour objectifs stratégiques de contribuer au maintien et à la compétitivité de la chaîne de

produits : graines de colza → huile → ester méthylique → biocarburant, fortement soutenue par les organismes publics de recherche, en particulier par l'Inra, par le ministère de la Recherche et de l'Agriculture ainsi que par l'Organisation nationale interprofessionnelle des oléagineux (Onidol).

L'autre facette de nos travaux se situe plus en amont, dans la préparation des bases oléochimiques notamment des acides gras [9, 10]. Nous préconisons de libérer les acides gras directement à partir de triglycérides endogènes des graines oléoprotéagineuses (colza, colza oléique, colza érucique, tournesol, tournesol oléique, ricin...). Cette « rupture technologique » passant directement de la graine au produit recherché, évite les étapes de trituration, de raffinage, de purification et la production de sous-produits parfois encombrants comme les tourteaux qui ne sont pas entièrement recyclables. Cet axe de recherche affiche un objectif « zéro déchet » : tous les composés de la graine oléoprotéagineuse seront valorisés, des lipides aux protéines et à la cellulose, utilisable comme biomatériau, combustible pour la production d'énergie, ou comme matière première pour la production de bioéthanol par voie fermentaire.

Cette rupture technologique est la marque d'une volonté de concilier l'innovation et la mise sur le marché de produit de valeur technologique multi-usage mise à rude épreuve des contraintes et défis sociétaux et environnementaux. Nos offres technologiques en produits/procédés séduisent aujourd'hui l'industrie chimique petite, moyenne ou grande entreprise, en France et à l'étranger. Le procédé robuste est une exigence. Ce résultat est attendu de la maîtrise des connaissances scientifiques et technologiques dédiées aux transformations physicochimiques et biologiques de la matière première.

Approches quantitatives de la réactivité chimique des systèmes polyphasiques en lipochimie

En choisissant de supprimer l'utilisation de tiers solvant, nous sommes confrontés à la reformulation des systèmes réactionnels. En l'absence de solvant, les systèmes réactionnels sont des mélanges binaires, ternaires ou pseudo-quaternaires. Dans ces ensembles, les constituants qui forment un tout sont susceptibles d'être en interrelation dynamique. Mais en réactivité, les limites sont identifiées. Elles sont liées au transfert de matière et au transfert d'énergie. Pour privilégier les interactions *in situ*, on s'intéresse à l'organisation du milieu réactionnel en jouant sur les aspects structuraux et aspects fonctionnels des éléments les contenant. Ainsi, les études physicochimiques gouvernent la mise au point de procédés. On s'emploie à réaliser i) l'évaluation des paramètres de solubilité selon Hildebrand, ii) l'évaluation des propriétés mécaniques (tensions superficielles et interfaciales, diagramme de phases, viscosité...), iii) l'évaluation des propriétés thermodynamiques (équilibre de phases, polymorphisme, propriétés thermiques), iv) l'évaluation des propriétés de surface (spectroscopie des molécules adsorbées, caractérisation directe des surfaces). Ces approches militent en faveur de la coopérativité des coréactifs immiscibles, la structuration des coréactifs et cocatalyseurs hydrophobes/hydrophiles ainsi que la mise en réactivité des mésophases et pseudophases dans des zones de forte probabilité et forte densité moléculaire. C'est à ce prix que le façonnage des produits finals est obtenu. La productivité des systèmes réactifs nécessite le contrôle cinétique et thermodynamique des processus élémentaires couplés au contrôle physique des phénomènes de transport et de transfert.

Chimie en C3 du glycérol/ carbonate de glycérol

Stratégie de recherche

Les études de transformation de la glycérine naturelle s'inscrivent dans une stratégie de synthèse dirigée des agro-synthons en C3 hautement réactifs que sont le carbonate de glycérol et le glycidol. Ce sont deux intermédiaires chimiques-clés de la synthèse de molécules élaborées à squelette glycérolique (monoesters de glycérol, ester de carbonate de glycérol, éthers de glycérol...). Depuis 1998, le carbonate de glycérol est le premier maillon de la chaîne de génération de synthons en C3 du glycérol.

Nous nous sommes proposés d'activer le glycérol par des études d'insertion du motif carbonate en faisant réagir le glycérol en présence de sources de carbonates organiques ou minérales afin de parvenir à l'hétérocyclisation de deux groupements hydroxyles vicinaux du glycérol en motif cyclocarbonate. Selon la nature du réactif donneur du carbonate, on distingue deux méthodes d'hétérocyclisation du glycérol en carbonate de glycérol : la transcarbonatation catalytique du glycérol par les carbonates organiques [11, 12] et la carbonylation catalytique du glycérol par l'urée [13].

Méthode 1 : Transcarbonatation du glycérol par les carbonates organiques

Les carbonates organiques acycliques et cycliques réalisent la transcarbonatation directe du glycérol par catalyse basique hétérogène avec des bases solides ou résines échangeuses d'anions fonctionnalisées sous forme hydroxyle ou bicarbonate. Cette dernière forme du catalyseur polymérique est plus catalytique et plus compatible au transfert de site carbonate des carbonates cycliques vers le glycérol. Deux procédés de synthèse de transcarbonatation du glycérol par les carbonates cycliques ont été ainsi mis au point en réacteur agité (procédé discontinu) et en réacteur à lit fixe chargé de résine anionique macroporeuse fonctionnant selon un procédé continu. Dans les meilleures conditions expérimentales, la réaction évolue

au point d'équilibre avec des rendements de l'ordre de 86-88 % qui sont atteints en 30 minutes en réacteur agité et en 4-7 minutes en réacteur à lit fixe fluidisé assorti d'une énergie d'activation faible de 8 kcal/mole pour le procédé discontinu et de 4 kcal/mole pour le procédé continu. Le modèle cinétique de Rideal rend bien compte du mécanisme de réaction de surface avec une espèce réactive mono-adsorbée sur les sites actifs macroporeux du catalyseur solide polymérique. Les données expérimentales ayant validé l'approche théorique ont permis de concevoir un réacteur/séparateur fonctionnant selon le principe d'un séparateur à film mince. Pris séparément, le réacteur fonctionne selon un mode parfaitement agité ouvert permettant l'introduction continue des réactifs et la séparation puis le soutirage du carbonate de glycérol. Couplée à un réacteur à lit fixe chargé de catalyseur solide et fluidisé par des réactifs avec un débit contrôlé, l'installation acquiert un fonctionnement continu et une productivité élevée en carbonate de glycérol pur, directement utilisable. C'est ainsi que le carbonate glycérol est fabriqué au stade pilote de laboratoire depuis 1996 à partir du carbonate d'éthylène. Mais ce réactif est d'origine pétrochimique. Son prix de revient élevé grève le développement de la chimie du carbonate de glycérol. Nous nous sommes orientés depuis 1998 vers l'utilisation d'une autre source de carbonate : l'urée.

Méthode 2 : Carbonylation du glycérol par l'urée

La carbonatation du glycérol par l'urée (figure 1) s'inscrit dans une démarche systématique d'amélioration de la compétitivité de procédé de synthèse de carbonate de glycérol. D'un point de vue mécanistique, la réaction du glycérol avec l'urée implique deux étapes consécutives : carbamoylation (étape 1) et carbonatation (étape 2).

Le bilan chimique assimile cette réaction à une carbonylation du glycérol acidocatalysée par des acides de Lewis bifonctionnels solides. En présence de sulfate de zinc, pris en exemple, le système final, hétérogène est constitué de phases liquide (carbonate de glycérol/ glycérol)/ solide (ZnSO₄)/ gaz (NH₃).

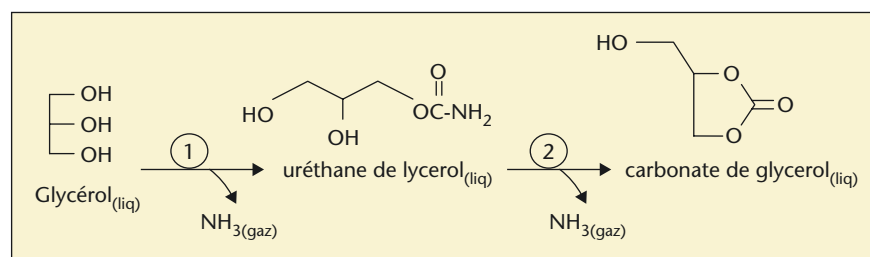


Figure 1. Hétérocyclisation du glycérol en carbonate de glycérol.

Six critères déterminants ont guidé nos efforts de recherche (figure 2) :

- 1) l'urée est un coréactif donneur de carbonate minéral, peu onéreux. Son utilisation permet la mise au point d'un procédé de synthèse original du carbonate de glycérol ;
- 2) l'étude et la compréhension du mécanisme de la réaction de l'urée avec le glycérol sont entreprises au profit de la recherche de l'amélioration du rendement de la réaction et de celui du procédé ;
- 3) une méthodologie catalytique est développée au détriment d'un processus stœchiométrique. Elle implique une démarche expérimentale quantitative de la réactivité basée sur la connaissance de la nature, du nombre et de la force des sites catalytiques de Lewis des sulfates métalliques recyclables, responsables de la catalyse hétérogène en système polyphasique ;
- 4) la mise en évidence des actes chimiques élémentaires et des intermédiaires chimiques

de la carbonylation catalytique du glycérol qui implique deux étapes consécutives *in situ* : carbamoylation et carbonatation du glycérol ;

5) les évolutions cinétiques comparables de ces actes chimiques élémentaires permettent de prédire les modifications des concentrations globales en coproduits : carbonate de glycérol et ammoniac gazeux.

La cogénération de l'ammoniac gazeux stigmatise la mise en œuvre d'un procédé physique flash grâce aux effets conjugués catalytiques et physiques. La nucléation du sulfate de zinc et la production de l'ammoniac gazeux *in situ* entraînent une modification de la composition du système réactionnel. En modulant la pression à température constante et par abstraction de l'ammoniac gazeux, on réalise la modification de l'état d'équilibre du système réactif en faveur d'un taux élevé de transformation utile du glycérol en carbonate de glycérol de près de 90 % dans un réacteur batch de 2

litres et 25 litres à 140 °C aux pressions de 30 mbar (4 h) à 5 mbar (2,5 h) sur une durée totale de réaction de 6,5 h ;

6) la purification du carbonate de glycérol a été étudiée dans un réacteur/évaporateur à film mince afin de séparer le carbonate de glycérol avant son point d'ébullition. On isole le carbonate de glycérol sans dégradation aux grades supérieurs à 94 % de pureté.

L'étude de ce procédé tient compte des préoccupations de la chimie moderne : économie moléculaire, génie de la réaction chimique, performances technologiques. La technologie de synthèse catalytique de carbonate de glycérol « naturel » associe les notions de bilans-matière et bilans-énergie. L'objectif actuel partagé avec la société Novance est de maximaliser le rendement de la réaction et celui du procédé d'obtention du carbonate de glycérol à l'échelle pilote industrielle.

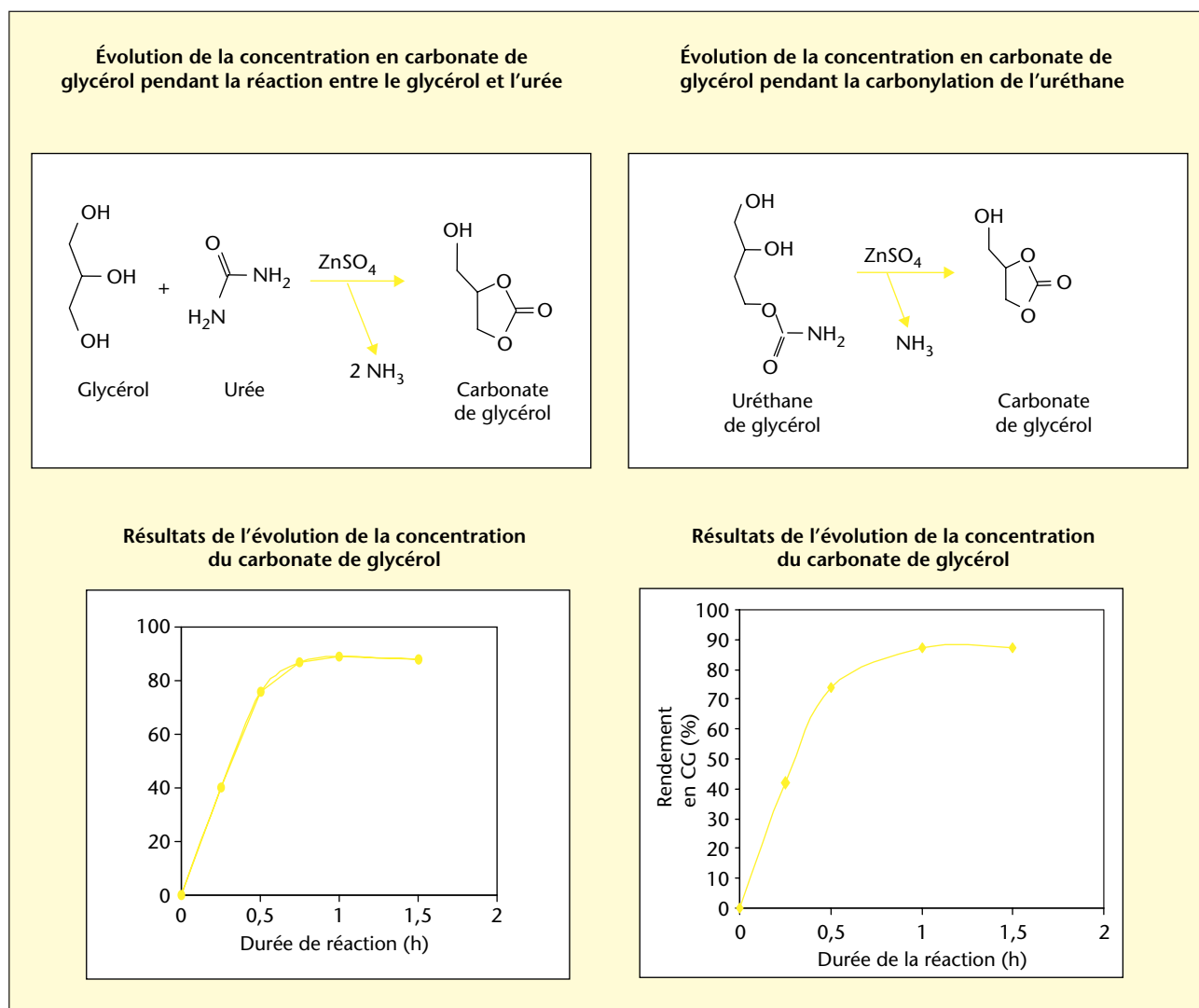


Figure 2. Système réactif de synthèse du carbonate de glycérol.

Nouveaux systèmes réactionnels pour la mise au point de nouveaux procédés de synthèse des composés multifonctionnels en C3 : cas d'études de procédés de synthèse des esters de carbonate de glycérol ou des (α -monoéthers de glycérol)

Objectifs

La substitution des groupes OH vicinaux du glycérol par un groupement cyclocarbonate s'avère une méthode élégante d'activation chimique des hydroxyles substitués par le cyclocarbonate et de l'hydroxyle libre de l'hydroxyméthyle. Le groupement hydroxyméthyle externe du carbonate de glycérol devrait acquérir une grande réactivité vis-à-vis des donneurs d'acyles non activés (acides gras, esters gras). Nous avons montré que le carbonate de glycérol forme avec des acides gras ou esters gras, des systèmes binaires non miscibles, qu'il est difficile de mettre en interrelation dynamique et d'aboutir à la formation de liaison ester désirée par acylation du carbonate de glycérol.

Démarche

Nous avons par conséquent préconisé une méthodologie de recherche qui consiste à étudier i) la solubilité des coréactifs par la détermination des paramètres de solubilité et du rayon de la sphère de solubilité (iR) de Hansen [14, 15] figure 3 du carbonate de glycérol [16], des acides gras et de l'oléate de méthyle de tournesol oléique, ii) le pouvoir compatibilisant de l'ester de carbonate de glycérol (produit final) sur les coréactifs par le suivi de l'évolution de la tension interfaciale des systèmes composés de carbonate de glycérol/acide gras/ester de carbonate de glycérol ou de carbonate de glycérol/ester gras/ester de carbonate de glycérol pour les sondes chimiques étudiées : l'estérification et l'alkoolyse. L'évolution de la tension interfaciale des systèmes est suivie en fonction du temps et de la concentration en ester de carbonate de glycérol dilué dans l'acide gras ou dans l'ester gras [17].

Résultats

À titre indicatif, les valeurs des distances séparant les centres de sphères de solubilité des coréactifs sont fournies (carbonate de glycérol $^iR = 23,1$; acides gras C8 : 0 $^iR = 24,7$; C18 : 0 $^iR = 24,5$; C18 : 1 $^iR = 26,1$ oléate de méthyle $^iR = 25,8$) ainsi que celles de paramètres de solubilité de Hansen en $(MP_a)^{1/2}$ (car-

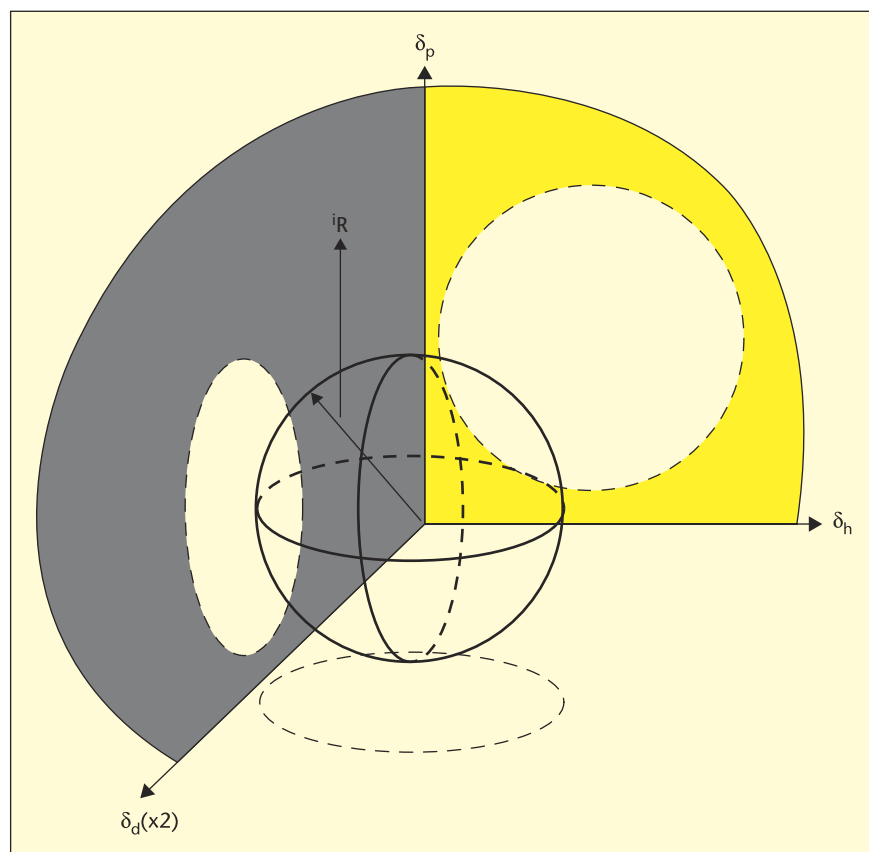


Figure 3. Représentation de la sphère de solubilité de Hansen [14].

bonate de glycérol $\delta_d = 19,5$, $\delta_p = 26$, $\delta_h = 12,5$, $\delta_t = 34,8$; acides gras C8 : 0 $\delta_d = 15,1$, $\delta_p = 3,3$, $\delta_h = 8,2$, $\delta_t = 17,5$; C18 : 0 $\delta_d = 16,4$, $\delta_p = 3,3$, $\delta_h = 5,5$, $\delta_t = 17,6$; C18 : 1 $\delta_d = 14,3$, $\delta_p = 3,1$, $\delta_h = 5,5$, $\delta_t = 15,6$; oléate de méthyle $\delta_d = 14,5$, $\delta_p = 3,9$, $\delta_h = 3,7$, $\delta_t = 15,5$). En examinant ces données on observe que la distance iR séparant les centres des sphères de solubilité des réactifs à chaînes acyles grasses et du carbonate de glycérol sont supérieures au rayon de la sphère de solubilité du carbonate de glycérol. On comprend alors pourquoi ces co-réactifs sont immiscibles. D'après les valeurs des paramètres δ_p et δ_h , ces réactifs à chaîne acyle grasse sont des fluides dépourvus d'interactions de type dipôle-dipôle et liaisons hydrogène. Les valeurs de ces paramètres les classent parmi les composés hydrophobes tandis que le carbonate de glycérol est un monoalcool doué de propriétés de polarité élevées assorties de propriétés donneur-accepteur de liaisons hydrogène. Pour permettre à la réaction d'avoir lieu, il est impératif d'associer des catalyseurs amphiphiles, pénétrants les mélanges pseudo-ternaires carbonate de glycérol/acide gras-ester de carbonate de glycérol ou carbonate de glycérol/esters gras – esters de carbonate de glycérol. L'acide p-toluène sulfonique

s'est avéré un agent catalytique amphiphile, vecteur et structurant le carbonate de glycérol dans l'acide octanoïque dans une zone hydrophile au sein d'un milieu hydrophobe constitué essentiellement de l'octanoate de carbonate de glycérol compatibilisant de l'acide octanoïque. La réaction d'estérification s'effectue simultanément à l'interface carbonate de glycérol/acide octanoïque et au sein de la phase hydrophobe du système mixte acide gras – ester de carbonate de glycérol (figure 4).

En présence des catalyseurs organostanniques amphiphiles, l'acylation du carbonate de glycérol par alcoolse implique également l'hypothèse de solubilisation du carbonate de glycérol dans la phase hydrophobe mixte : ester méthylique – ester de carbonate de glycérol de tournesol oléique dans des miscelles inverses. De par sa nature amphiphile, l'oxyde de dibutyl étain permet la mise en contact des sites réactifs du carbonate de glycérol hydrophile et de l'ester méthylique de tournesol oléique hydrophobe. Des approches similaires destinées à la préparation des α -monoéthers de glycérol à partir du carbonate de glycérol [18] ont confirmé le comportement de la structure ambivalente du carbonate de glycérol, de caractère hydrophobe par la fonction cyclocarbo-

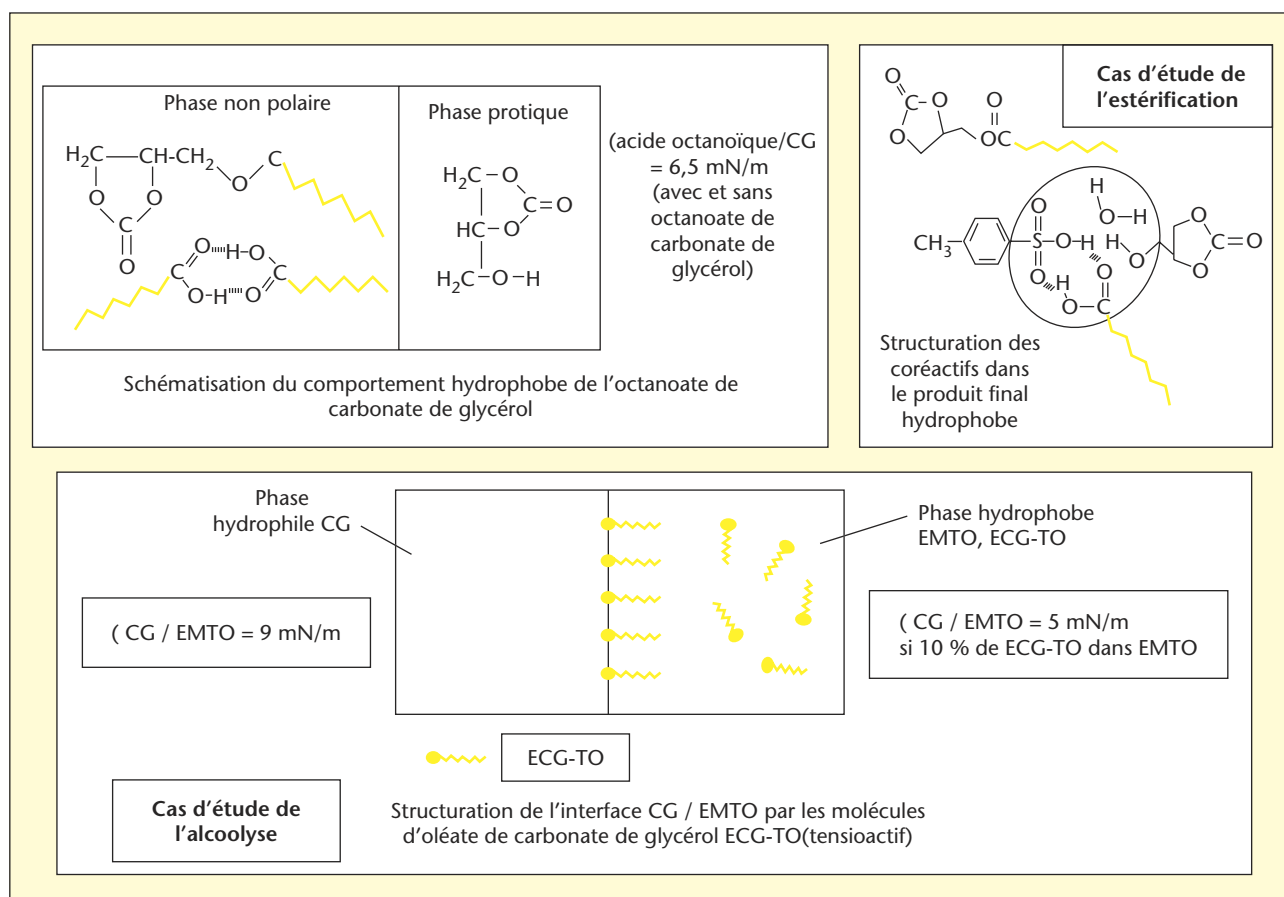


Figure 4. Systèmes binaires et ternaires de réactivité du carbonate de glycérol.

nate interne et de caractère hydrophile par sa fonction hydroxyméthyle externe. Dans les deux cas d'études d'acylations ou de O-éthérisation du carbonate de glycérol, les produits finaux sont d'excellents agents compatibilisants des systèmes pseudo-ternaires engendrés par la présence du carbonate de glycérol. Ce sont des phases réactionnelles à l'origine des milieux organisés à partir desquels est élaborée une gamme de composés poly-oxygénés en C3 du glycérol tels que les esters du carbonate de glycérol, et les monoéthers de glycérol. Ces stratégies de recherche de nouvelles voies de synthèse contribuent à créer des nouveaux systèmes, sources de connaissance de la réactivité des agrosynthons en C3. Ici, les aspects structuraux et fonctionnels sont fondamentaux pour la maîtrise de la transformation et de la fonctionnalisation du carbonate de glycérol. Ce sont des nouveaux outils en synthèse organique fine que nous allons exploiter et amplifier.

Chimie des oligomères du carbonate de glycérol – Procédé de synthèse du glycidol

L'hétérocyclisation de deux groupes hydroxyles vicinaux du glycérol insère un groupement cyclocarbonate, siège de l'oligomérisation du carbonate de glycérol. C'est par le biais de la catalyse bifonctionnelle que nous avons abordé l'ouverture cationique et/ou anionique du site cyclocarbonate. L'oligomérisation du carbonate de glycérol suivie de la dépolymérisation contrôlée sous l'action des zéolites bifonctionnels à effet catalytique et effet cage permet la contraction du cycle à 5 chaînons du carbonate de glycérol en cycle à 3 chaînons du glycidol [19] (figure 5).

Ce nouveau procédé fournit du glycidol anhydre avec une sélectivité, un rendement et pureté élevés dans un réacteur solvothermal à film mince fonctionnant sur le principe de réacteur/ séparateur avec abstraction du glycidol et du dioxyde de carbone à l'état gazeux.

Produit industriellement par des procédés laborieux de synthèse et de purification à partir de l'alcool allylique d'origine pétrochimique, le glycidol est aujourd'hui le synthon de la deuxième génération de la glycérine naturelle. La fabrication des surfactants non ioniques, ioniques, amphotères est ouverte à partir du glycidol anhydre « végétal » à un meilleur niveau de compétitivité technologique, écologique et économique [20].

Lipo-procédé *in planta*, *ex planta* et/ou *post planta*

Parallèlement à ces travaux, nous nous sommes intéressés à l'élément hydrophobe à sa source dans la graine oléoprotéagineuse en tant que micro-réacteur et substrat fournisseur d'acyles des transformations lipochimiques *in situ*.

Trois approches scientifiques caractérisent les travaux de recherche en lipotransformation. Il s'agit :

1) de la lipotransformation *in planta* focalisée sur les études d'interactions entre les lipides endogènes et les lipases endogènes des graines

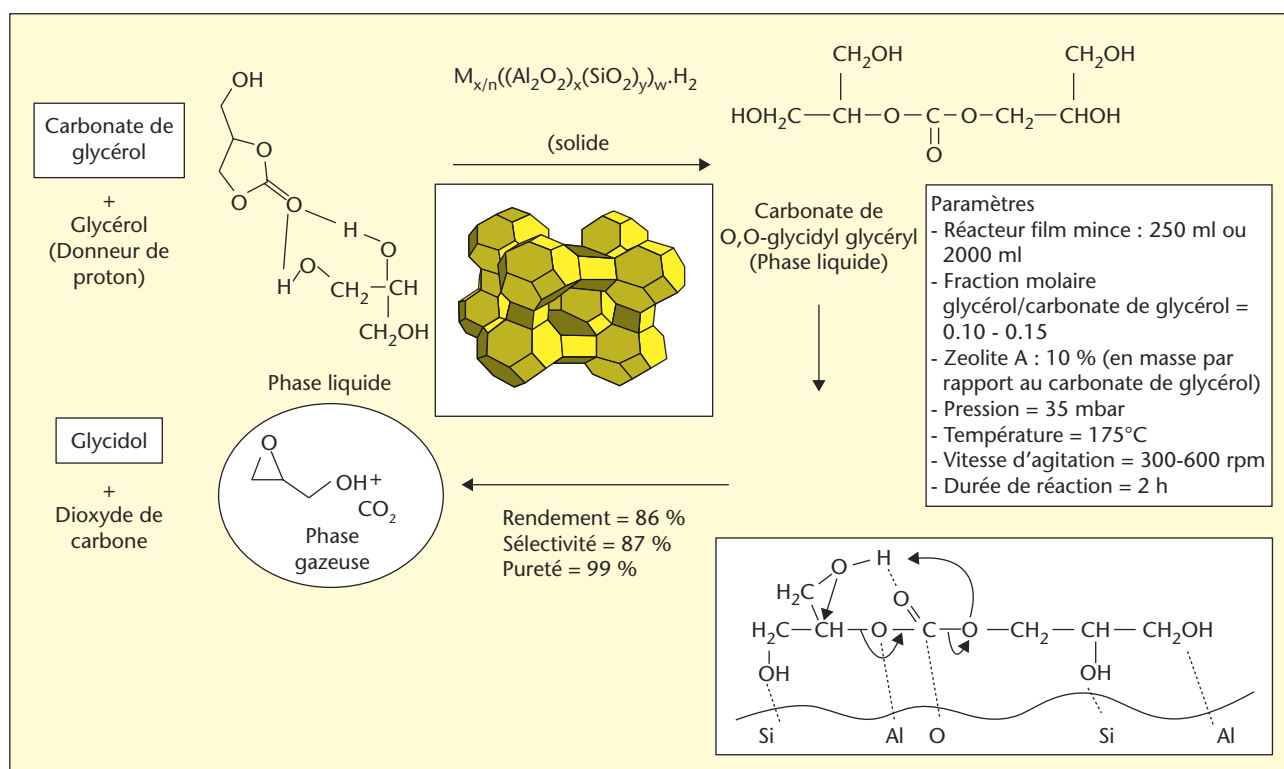


Figure 5. Synthèse catalytique du glycidol par oligomérisation du carbonate de glycérol.

entières oléoprotéagineuses modifiées génétiquement ;

2) de la lipotransformation *ex planta* ciblée sur les études d'interactions entre les lipides endogènes des graines oléoprotéagineuses standard et les lipases exogènes des plantes ou des micro-organismes.

Ces approches sont illustrées par la mise en œuvre des réactions de rupture de liaisons esters de triglycérides complexes et de transfert d'acyles vers des accepteurs nucléophiles : l'eau pour l'hydrolyse, les alcools pour l'estérification ou la transestérification. Ces approches sont interactives. De plus elles requièrent des compétences pluridisciplinaires de l'agronomie, agrogénomique, biologie, biotechnologie, génie de la réaction biochimique et lipochimie, etc. L'expertise socioéconomique par les acteurs des sciences sociales est opportunément sollicitée pour évaluer les impacts économiques de ces procédés sur la filière entière des oléagineux de la semence aux produits/procédés.

3) la troisième approche est consacrée aux travaux de la lipotransformation *post planta*, qui vise la modification chimique poussée des substrats lipidiques pour obtenir des composés oléophiles multifonctionnels. Son originalité réside dans la mise au point de procédés chimiques basés sur l'organisation induite par la structure des molécules lipidiques. La coopérativité des coréactifs, catalyseurs, cocatalyseurs

et coproduits hydrophobes/hydrophiles, l'assemblage moléculaire sélectif via la formation dirigée des liaisons chimiques covalentes sont des buts que l'on se fixe pour l'obtention de biomolécules multifonctionnelles.

Études de procédés de production d'acide gras

Démarche

L'étude de la réaction d'hydrolyse chimioenzymatique consiste en la mise au point d'un réacteur multitâche adapté à la production des composés oléophiles à partir des milieux réactionnels issus des graines oléoprotéagineuses standard ou génétiquement modifiées. Le travail de recherche comprend deux phases d'études : i) Une première phase d'étude de l'hydrolyse chimioenzymatique sur un modèle de type liquide/liquide : Modèle 1 : *huile + enzyme exogène + tampon* ; ii) une deuxième phase d'étude de la réaction sur un modèle « vrai » graine broyée : Modèle 2 : *farine de grain cru + enzyme exogène*.

Résultats

Les résultats issus de l'étude du modèle 1 montrent que l'hydrolyse chimioenzymatique de l'huile de colza nécessite pour être rapide et totale, la création et le maintien d'une interface

eau/huile stable. C'est dans le but d'optimiser la stabilité de cette dernière que l'émulsification du système réactionnel est réalisée avec l'aide des moyens d'activation de la sonochimie ou d'agitation par turbine à fort cisaillement. Les facteurs prépondérants sont le rapport enzyme/substrat, l'énergie fournie pour l'émulsification représentée par la puissance ultrasonore restituée dans le milieu ou la vitesse de rotation de la turbine selon le moyen d'émulsification et la proportion volumique de tampon dans le milieu. Ces facteurs sont optimisés par la méthodologie de la recherche expérimentale pour mieux cerner le degré d'hydrolyse après 3 heures de réaction (figure 6).

Il en résulte que l'émulsification par turbine à fort cisaillement permet de jouer sur les facteurs étudiés tout en gardant une hydrolyse optimale (DH = 95 % ; 3 h ; 37 °C) contrairement à ce qui est obtenu par ultrasons (DH = 80 %, 3 h ; 95 %, 6 h, 37 °C). L'hydrolyse quasi totale de l'huile est par ailleurs obtenue en deux fois moins de temps que par sonication avec en outre une quantité de lipase nécessaire inférieure. Mais les ultrasons présentent l'avantage d'être énergétiquement plus économiques. Ils sont seulement appliqués 24 minutes sur 3 à 6 heures de réaction alors que la turbine fonctionne de façon continue tout au long de l'essai. Toutefois, pour ce modèle 1, l'émulsification par turbine à fort cisaillement

Études de procédés de production d'esters gras

Objectifs

La deuxième série des sondes chimiques envisagées consisterait à synthétiser des esters gras par l'étude des réactions réversibles de transfert d'acyle. Les études d'interactions focalisées entre les lipides libres/lipase libre ou lipides libres/lipase immobilisée activée favorisent le transfert d'acyles des triglycérides sur l'alcool réactif accepteur.

Démarche et résultats préliminaires

Ces études reposent sur le succès du modèle 1 des études précédentes. C'est à partir du milieu émulsionné du modèle 1 que nous avons produit la lipase immobilisée sur support polymérique synthétique. Les résines macroporeuses échangeuses d'anions se sont avérées d'excellents « réservoirs » de lipases libres par simple adsorption. Ce phénomène d'adsorption de lipase est irréversible et le degré de fixation dépend de la nature du contre ion anionique (chlorure, hydroxyle ou carbonate) de la résine. Des interactions hydrophobes sont mises en évidence dans la phase d'élaboration de ces nouveaux matériaux catalytiques. Leur activité catalytique est démontrée. Ils expriment autant une activité lipolytique qu'une activité estérase en présence des triglycérides de l'huile de colza. Ce sont des nouveaux matériaux catalytiques qui nous permettent des études de procédés de transfert d'acyle sur la base des sondes chimiques diverses : hydrolyse, estérification, transestérification.

De plus, ces matériaux permettent le déroulement de ces réactions de transfert d'acyle en réacteur chromatographique constitué par un lit catalytique de lipase immobilisée. L'alimentation préalable en élément hydrophobe tel

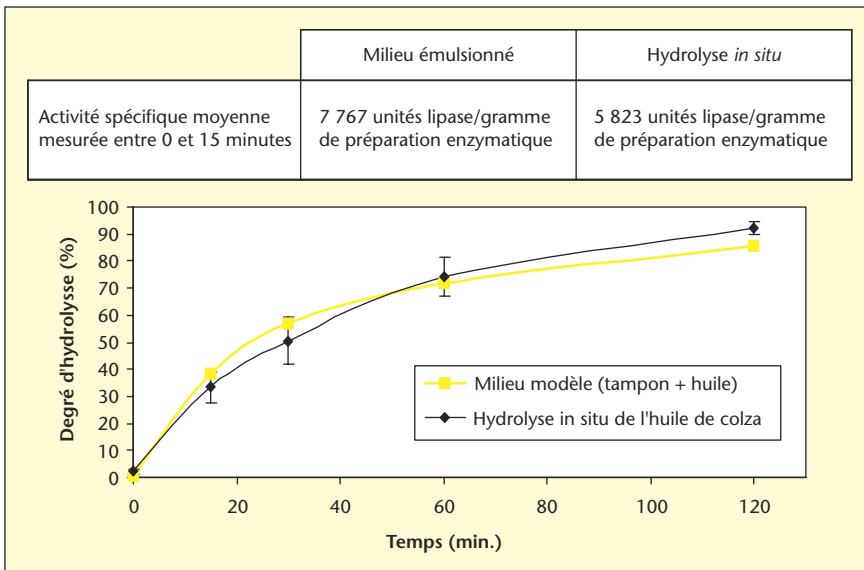


Figure 6. Cinétiques d'hydrolyse enzymatique de l'huile de colza par la lipase issue de *Candida rugosa* : comparaison de la réactivité *in situ* à celle obtenue à partir d'huile commerciale en milieu émulsionné.

est adaptée dans la phase d'extrapolation des meilleures conditions expérimentales à l'échelle industrielle. Le deuxième modèle d'étude d'interactions entre les triglycérides des huiles endogènes des graines entières standard de colza et la lipase exogène implique des opérations mécaniques de broyage à sec ou de broyage humide et de mise en contact intime. L'eau s'avère un excellent vecteur de l'huile. La mécanosynthèse chimioenzymatique fonctionne avec un degré d'hydrolyse avancé une fois de plus conditionné par la qualité de l'interface enzyme/substrat façonné par l'activation sonochimique ou par homogénéisation haute pression [9, 21]. La comparaison des cinétiques obtenues à partir de 13,5 % en masse de graine de colza dans l'eau distillée avec sonication ou homogénéisation peut être effectuée au moyen de leur représentation graphique présentée à la figure 7.

Dans le domaine expérimental exploré, la capacité de la lipase à hydrolyser les triglycérides de la graine demeure assez proche selon que la sonication ou l'homogénéisation à haute pression est utilisée. Les deux cinétiques obtenues ont un profil similaire. Les vitesses de réaction enregistrées dans les deux cas sont comparables. Le calcul des activités spécifiques initiales moyennes entre 0 et 15 minutes respectivement de $5\,120 \pm 390$ et $4\,600 \pm 320$ UL/g d'enzyme confirme cette similitude selon que l'homogénéisation ou la sonication ont été utilisées en tant qu'outil de rupture des structures cellulaires. De point de vue de la réactivité, les deux techniques de mise en interaction de la lipase et de son substrat sont donc à peu près équivalentes. Cependant, cette conclusion n'est valable que dans le domaine expé-

riental exploré. En effet, les homogénéisateurs industriels sont capables d'atteindre des pressions de travail plus élevées de l'ordre de 1 000 bars, mais la pertinence de l'augmentation de ce facteur reste liée au coût énergétique qu'elle engendre.

On observe que la rupture par l'eau de liaisons esters des triglycérides endogènes conduit à la production de concentrats lipidiques (acides gras), protéiques, organohydrophiles, solides résiduels séparés par des couches d'adsorption grâce à l'auto-assemblage de ces constituants par famille de produits. Les résultats de ces approches mécanosynthèse chimioenzymatique marquent une rupture fondamentale et totale par rapport au cheminement classique de la trituration et de l'oléochimie industrielles.

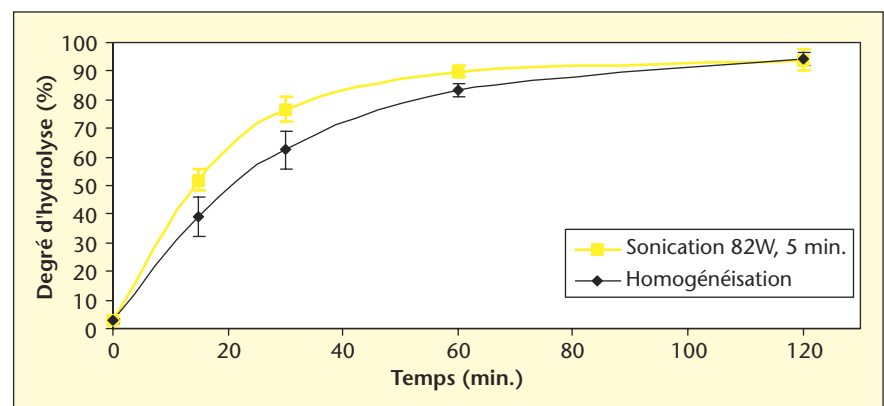


Figure 7. Cinétiques d'hydrolyse enzymatique *in situ* des lipides endogènes de la graine de colza par la lipase issue de *Candida rugosa* : comparaison des outils de cassage cellulaire, sonication ou homogénéisation haute pression.

que l'acide oléique et l'octanol conditionne la vitesse d'écoulement des réactifs dans le lit catalytique hydrophobe. Dans la perspective de l'amélioration du taux de conversion de la réaction d'estérification, l'effort de recherche a été focalisé sur l'optimisation du débit d'alimentation et du transfert de matière afin de limiter la réaction réversible d'hydrolyse. L'oléate d'octanol est produit ainsi avec un rendement de 70 % et une sélectivité totale à un débit de 0,5 mL/min dans un réacteur colonne à 4 éléments selon un procédé continu [22, 23].

En partant de la graine en tant que substrat/microréacteur, cette approche contribue à aller vers l'autonomie des procédés du schéma de la filière de production d'acides gras et d'esters gras.

Concept de la réactivité chimique en phase lipidique non polaire pour fabriquer des molécules élaborées

Cas d'étude du procédé de synthèse de monoglycérides purs par condensation des acides gras avec le glycidol (figure 8) [20, 24]

Les monoesters d'acides gras et de glycérol utilisés comme émulsifiants, permettent la formation et la stabilité des émulsions eau dans huile ou huile dans eau dans divers secteurs d'applications : alimentaire, pharmaceutique, cosmétique, textiles... La tendance actuelle va vers l'utilisation de monoglycérides distillés ou monoglycérides-90 à cause de leurs propriétés multifonctionnelles. Or la distillation moléculaire par laquelle cette qualité est requise est une étape supplémentaire et coûteuse.

L'objectif que nous nous sommes fixés pour préparer le mono-oléate de glycérol pur est d'étudier la condensation de l'acide oléique avec le glycidol en présence d'un catalyseur (résine échangeuse d'anions) par un procédé continu de synthèse sélective de l' α -mono-oléate de glycérol. Cet isomère est obtenu grâce au glycidol qui permet l'insertion sélective de l'acide gras en position α du glycérol. En pratique la molécule d'acide gras est d'abord adsorbée sur le catalyseur polymérique solide. L'adsorption est régie par un mécanisme réversible ou irréversible selon que la résine anionique est fonctionnalisée sous forme chlorure, hydroxyde, bicarbonate ou utilisée sous forme base libre. Cette étape confère au catalyseur solide un caractère hydrophobe qui gouverne la solvataion du mélange acide gras/glycidol alimentée en quantité stœchiométrique [20, 24].

Ces conditions de mise en œuvre favorisent le régime chimique assorti d'un processus réac-

tionnel où la réaction de surface est l'étape lente. Nous avons mis en évidence des modèles cinétiques d'un ordre partiel égal à 0 pour l'acide gras et d'un ordre partiel égal à 1 pour le glycidol. Ainsi l'optimisation de la mise en œuvre du procédé repose essentiellement sur la conversion totale du glycidol. Celui-ci est indésirable dans le produit final. Le procédé continu a été optimisé dans un réacteur en éléments qui permet la consommation totale du glycidol, la transformation directe d'un grand nombre d'acides gras en monoglycérides avec une teneur en monoesters d'acides gras et de glycérol élevée de l'ordre de 85 - 95 %. C'est un réacteur polyvalent fournissant en sortie des monoglycérides purs, à l'échelle pilote du laboratoire avec un débit de 40 g/h directement utilisables dans de nombreuses applications.

En termes de retombée fondamentale, l'insertion du motif glycérylique sur le groupement carboxylique de l'acide oléique transforme le lipide non polaire en lipide polaire. Grâce à cette modification, nous avons développé le concept de la réactivité chimique en milieu monoglycéride-eau et réalisé dans des conditions nouvelles et originales l'hydroxylation directe de la liaison éthylénique du mono-oléate de glycérol en milieu émulsionnant. C'est la genèse des polyols oléochimiques. On considère les monoglycérides comme intermédiaires chimiques avec une fonction de réactif/émulsifiant [25].

Cas d'étude et de mise au point d'un procédé de synthèse des esters de saccharose en milieu émulsionnant/dispersant [26]

Problématique

Les esters de saccharose bénéficient dans les secteurs alimentaires et cosmétiques de leur image de produit totalement naturel parce qu'ils sont basés sur des matières premières renouvelables comme le saccharose et les acides gras. Leur synthèse a pendant longtemps posé un problème du fait de l'utilisation de solvants toxiques et difficilement éliminables comme le diméthylformamide et le diméthylsulfoxyde. L'industrialisation de ces esters de sucre a été limitée en partie car les pertes de ces solvants pendant les phases de traitement augmentent considérablement les frais de fabrication et que des traces restent dans les esters de sucre produits. De ce fait, ils ne peuvent pas être utilisés comme émulsifiants pour produits alimentaires et non alimentaires dans les secteurs d'application sensibles, aussi bien la pharmacie que la cosmétologie. Aussi la pratique exige l'absence de traces d'esters méthyliques présentant le risque de libérer le méthanol et

l'absence d'acides gras libres corrosifs et polluants.

Démarche

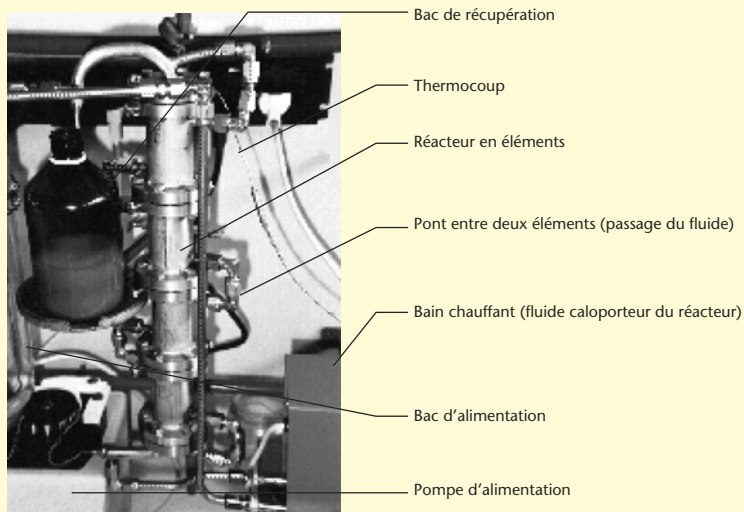
Nous avons étudié et mis au point un procédé de synthèse des esters de saccharose, sans solvant, par réaction des esters méthyliques et du saccharose en présence de catalyseurs alcalins solides sous l'assistance du tensio-actif produit qui est ajouté judicieusement en phase d'initiation de la réaction. Doué d'un fort pouvoir compatibilisant, le rôle déterminant du mono-ester de saccharose consiste à compatibiliser les phases hydrophobes (esters méthyliques) et hydrophiles (saccharose) dans lesquelles est dispersé le catalyseur.

Nous avons abordé l'aspect microscopique du système pseudo-ternaire créé *in situ* en observant les phases des systèmes constitués par : esters méthyliques/saccharose/sucroester. Après examen du comportement des émulsions fines ou grossières au microscope polarisant, on identifie une zone pseudo-ternaire « pauvre en eau » propice à l'évolution de la réaction.

C'est une émulsion laiteuse, fluide, huile-dans-eau dans laquelle sont maintenus les réactifs non miscibles [26] (figure 9).

Le maintien de l'émulsion dans des conditions opératoires déterminées permet aux réactifs non miscibles de réagir. Le contrôle du taux d'hydratation du carbonate alcalin et le maintien de la dépression du système sont les paramètres fondamentaux exigés pour le bon déroulement de la réaction et pour l'obtention d'un produit final de qualité (exempt de méthanol et d'ester méthylique résiduels). Le carbonate de potassium joue un double rôle. Il sert de piège pour l'eau libre ainsi que d'adsorbant des esters méthyliques et de saccharose. Il est nécessaire de maintenir la structure de son système monoclinique constitué essentiellement par le sesquihydrate $K_2CO_3 \cdot 1,5H_2O$ [27] pour mener la réaction à son meilleur niveau. De plus l'adsorption irréversible des esters méthyliques et du saccharose sur le carbonate de potassium implique un mécanisme multi-adsorbé faisant intervenir les sites réducteurs et basiques faibles du catalyseur minéral avec désorption des esters de sucre hydrophiles formés et régénération de sites actifs. Le mode d'action du processus réactionnel est alors catalytique dans ce système évolutif.

L'élucidation du mécanisme réactionnel est également abordée par l'analyse structurale du ou des produits(s) final(s) par modélisation moléculaire. On a établi un mécanisme réactionnel qui fait appel à une suite de réactions de transfert d'acyle réversibles aboutissant à l'obtention de monoester de saccharose au degré de substitution contrôlé et maîtrisé [28].



Vue du réacteur en éléments en fonctionnement lors du procédé de synthèse en continu de monooléate de glycérol

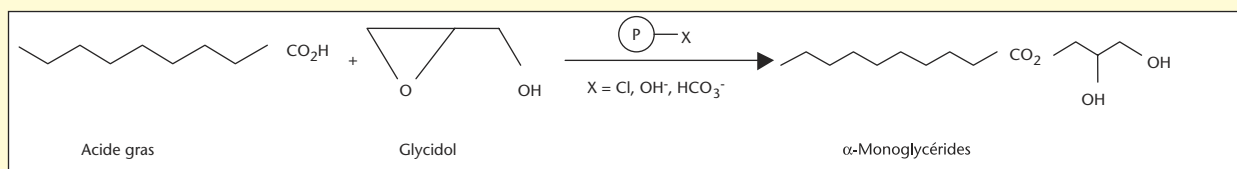
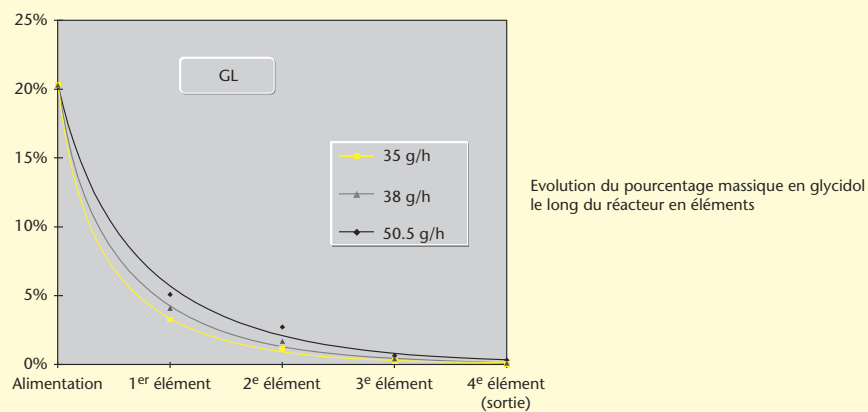
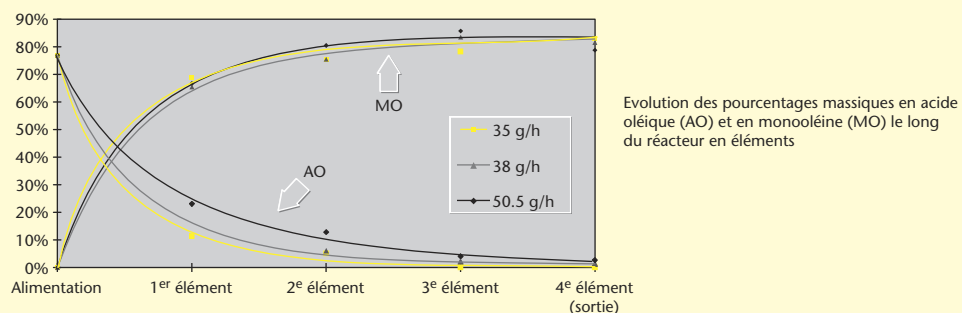


Figure 8. Procédé de synthèse de monoglycérides purs [20, 24].

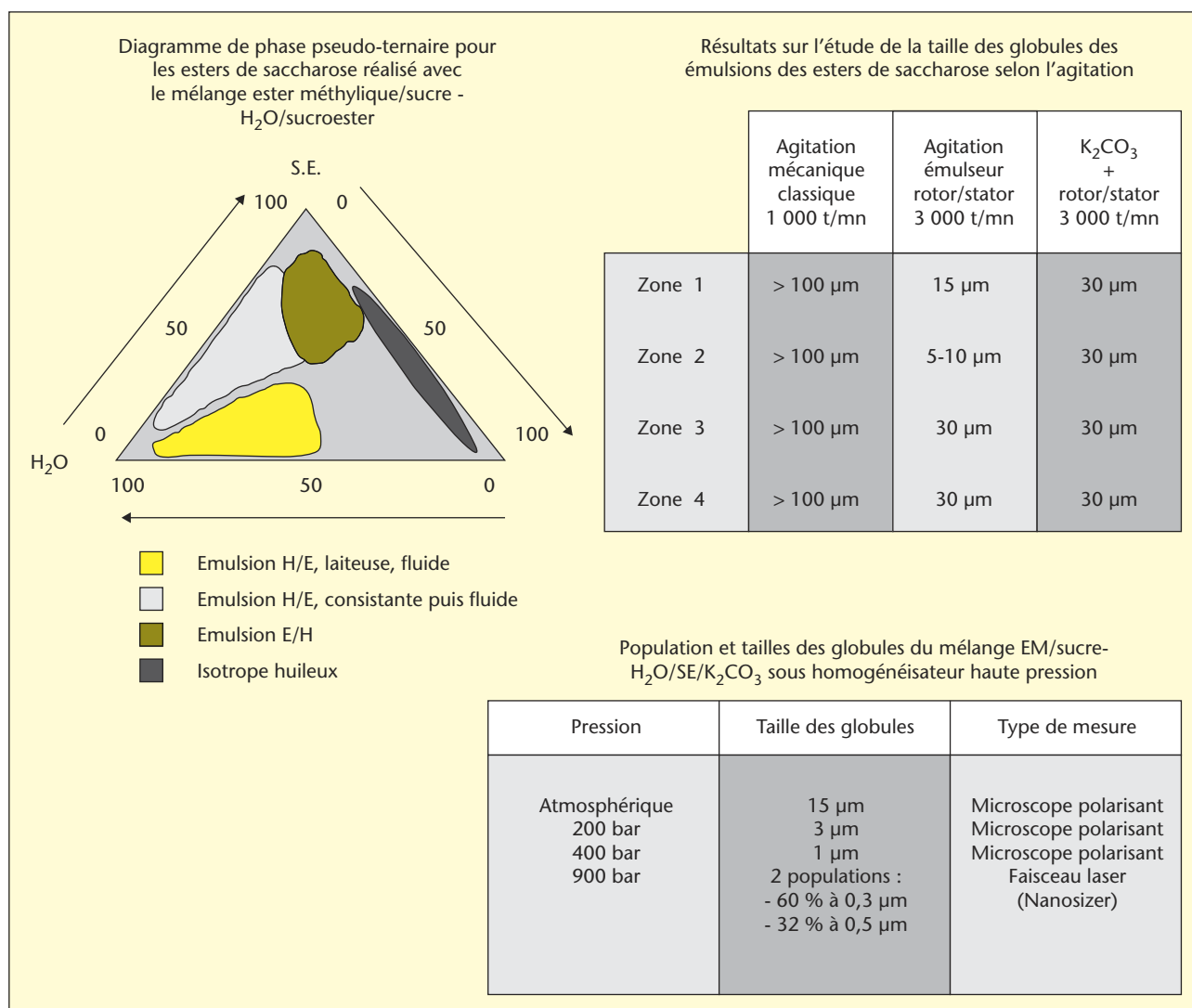


Figure 9. Zones de réactivité des systèmes pseudo-ternaire/quaternaire constitué par le mélange esters méthyliques/saccharose/eau/sucroester.

Conclusion

Les travaux réalisés visent à maîtriser les procédés physicochimiques, chimiques, chimioenzymatiques et physiques de transformation ou de fonctionnalisation de l'élément hydrophobe pour l'obtention de molécules oléochimiques propices à l'élaboration des bioproduits (agrosolvants, tensioactifs, additifs/ bases lubrifiants/ carburants, intermédiaires chimiques...). L'accent est mis sur la construction de l'objet chimique à partir des substrats solides ou liquides avec une efficacité et une sélectivité sans cesse accrues. La mise au point de réactions à faible coût en matière première sans tiers solvant, la mise au point de réactions dans de nouveaux systèmes hétérogènes polyphasiques propices aux processus catalytiques, la mise au point de technologies d'activation, de transfert de matières et d'énergie et le développement concomitant de procédés de réaction/

séparation répondent aux objectifs fondamentaux affichés d'économie moléculaire et de productivité.

Remerciements. Mes vifs remerciements vont à l'endroit de l'ensemble des acteurs – décideurs : chercheurs – doctorants – techniciens – secrétaires – institutionnels, professionnels et experts technologiques et scientifiques de notre petit monde de la lipochimie. Chacun a apporté une précieuse contribution au bénéfice de notre équipe de recherche à l'Unité chimie agro-industrielle.

RÉFÉRENCES

1. TUNDO P, ANASTAS P, BLACK D, *et al.* Synthetic pathways and processes in green chemistry. Introduction overview. *Pure Appl Chem* 2000 ; 72 : 1207-28.
2. EISSEN M, METZGER JO, SCHMIDT E, SCHNEIDWIND U. 10 years after rio – concepts on the contribution of chemistry to a sustainable development. *Angew Chem Int Ed Engl* 2002 ; 41 : 414-36.
3. LIST GR. Giants from past : Michel Eugene Chevreul (1786-1889). *Inform* 2003 ; 14 : 564-5.
4. VERHE R, MITTELBACH M, MATEO S, *et al.* CH 9. Industrial products from lipids and proteins. In : *Renewable bioresources : scope and modification for non-food applications*. Ed. John Wiley & Sons Ltd, 2004 : 208-50.
5. VERMEERSCH G. Development of a biodiesel activity. *OCL* 2001 ; 8 : 33-8.
6. VERMEERSCH G. The European commission proposes two guideline projects to encourage the use of biofuels. *OCL* 2002 ; 9 : 14-5.

7. CLAUDE S, HEMING M, HILL K. *Development of glycerol market. Part I. Markets and applications.* Lipid Technol Newsletter, 2000 ; 105-13.
8. MOULOUNGUI Z. Fine Chemistry from industrial oilseed crops. *CR Acas Agric F* 2000 ; 86 : 185-99.
9. MOULOUNGUI Z, MECHLING E. Method for preparing fatty acids by hydrolyzing in situ lipids contained in a plant seeds. WO 2004/022677 (18-03-2004), FR 0210942 (04-09-2002).
10. ALIBERT G, MOULOUNGUI Z, GRISON R, ROMESTAN M. Libération des acides gras par autolyse enzymatique des triglycérides des graines oléoprotéagineuses. *OCL* 2001 ; 8 : 98-102.
11. MOULOUNGUI Z, YOO JW, GACHEN C, GASET A, VERMEERSCH G. Process for the preparation of glycerol carbonate from glycerol and a cyclic organic carbonate, especially ethylene or propylene carbonate. Brevet européen EP 0739888 (30-10-1996).
12. VIEVILLE C, YOO JW, PELET S, MOULOUNGUI Z. Synthesis of glycerol carbonate by direct carbonatation of glycerol in supercritical CO₂ in the presence of zeolites and ion exchange resins. *Catal Lett* 1998 ; 56 : 245-7.
13. CLAUDE S, MOULOUNGUI Z, YOO JW, GASET A. Method for preparing glycerol carbonate. EP 0955298 (14-11-2001) US Pat 6025504 (15-02-2000), FR 98 05547 (30-04-1998).
14. BARTON AFM, ALLAN FM. *CRC Handbook of solubility parameters and other cohesion parameter* 2nd ed. London : CRC Press.
15. BARTON AFM. Solubility parameters. *Chem Rev* 1975 ; 75 : 731-75.
16. DE LANTY P. *Paramètres de solubilité du carbonate de glycérol.* Rapport Rhône-Poulenc Recherche, 1997.
17. PELET S. Valorisation du glycérol à travers l'étude de la réactivité chimique du carbonate de glycérol : Nouvelles voies de synthèse des esters de carbonate de glycérol et propriétés. Thèse INP de Toulouse, octobre 1999, n° d'ordre 1584.
18. MATEO S. Propriétés physico-chimiques et réactivité du carbonate de glycérol. Faisabilité de l'obtention des α -monoéthers de glycérol et propriétés solvantes. Thèse INP de Toulouse, décembre 2001, n° d'ordre 1846.
19. YOO JW, MOULOUNGUI Z, GASET A. Method for producing and epoxide, in particular of glycidol and installation for implementation. US Pat 631641 (13-11-2001). PCT/WO 98 40371 (17-09-1998), FR 27 60747 (12-03-1997).
20. MOULOUNGUI Z, PEYROU G, CACHEN C, RAKOTONDRAZAFY V, GASET A. Process and equipment for producing glycerol esters of fatty acid. EP 0694525 (29-09-1999), FR 94099150 (28-07-1994).
21. MECHLING E. Mise au point d'un réacteur multitâches adapté à la production des composés oléophiles à partir des milieux réactionnels issus des graines oléagineuses. Thèse INP de Toulouse, novembre 2002.
22. BELLEMARE B. Etude de réactions de transfert d'acyles : Synthèse catalytique des esters gras en présence de lipases de micro-organismes chez les plantes oléoprotéagineuses. Thèse INP de Toulouse, décembre 2003.
23. BELLEMARE B, MOULOUNGUI Z. Functional proteins carrying from full lipids matrix (TAG and FFA) to liquid-solid interfaces – heterogeneous chemo-enzymatic catalysis application. In : *25th world congress and exhibition of the international society for fat research (ISF). The Research and Development Challenge : How to improve uses of oils and fats.* 12-15. october 2003 : 40.
24. MOULOUNGUI Z, GAUVRIT C. Synthesis and influence of fatty acid esters on the foliar penetration of herbicides. In : *Crops and Products.* 1998 : 1-15 ; 8.
25. MOULOUNGUI Z. Chemistry of glycerol/glycerol carbonate for design multifunctional C3 glycerol skeleton compounds. In : *95th AOCS Annual meeting and expo. Abstracts. Cincinnati, Ohio.* May 2004 : 9-12 ; 73.
26. CLAVERIE V, MOULOUNGUI Z, GASET A, CECUTTI C, LE HEN C. Method for producing carbohydrate partial esters. WO 98/49175 (05-11-1998), DE 197 179681 (28-04-1997).
27. MOULOUNGUI Z, DELMAS M, GASET A. The Wittig-Horner reaction in weakly hydrated solid-liquid media : Structure and reactivity of carbanionic species formed from ethyl (diethyl phosphono) acetate by adsorption on solid inorganic bases. *J Org Chem* 1989 ; 54 : 3936-41.
28. LEMAIRE-CLAVERIE V. Mise au point d'un nouveau procédé de synthèse des esters de saccharose de degré de substitution contrôlé par une réaction de transfert d'acyles en milieu hétérogène solide/liquide. Thèse de l'INP de Toulouse, décembre 1998.