



**HAL**  
open science

# Les gaz liquéfiés comme solvants alternatifs pour l'éco-extraction de produits naturels

Vincent Rapinel

► **To cite this version:**

Vincent Rapinel. Les gaz liquéfiés comme solvants alternatifs pour l'éco-extraction de produits naturels. Cristallographie. Université d'Avignon, 2018. Français. NNT : 2018AVIG0271 . tel-03630801

**HAL Id: tel-03630801**

**<https://hal.inrae.fr/tel-03630801v1>**

Submitted on 30 Jun 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THESE

Pour obtenir le grade de Docteur en Sciences  
de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse

**SPECIALITE : CHIMIE**

Présentée et soutenue par

**Vincent RAPINEL**

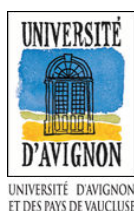
Le 29 Juin 2018

Les gaz liquéfiés comme solvants alternatifs pour  
l'éco-extraction de produits naturels.

Directeurs de thèse : **Prof. Farid CHEMAT** et **Dr. HDR Njara RAKOTOMANOMANA**

## Composition du jury

<b>Mme Nathalie DUPUY</b>	Professeur des Universités, Université d'Aix-Marseille, France	<b>Rapporteur</b>
<b>M. Pierre CHALARD</b>	Professeur des Universités, SIGMA Clermont, France	<b>Rapporteur</b>
<b>M. Jean-François MAINGONNAT</b>	Directeur de recherche, INRA, Avignon, France	<b>Président</b>
<b>Mme Nadine VALLET</b>	Docteur, ISIPCA, Versailles, France	<b>Examineur</b>
<b>M. Alain VALLAGEAS</b>	Celsius SARL, Vilette de Vienne, France	<b>Invité</b>





# Remerciements

*Trois ans. Trois années qui paraissaient si longues au commencement, mais qui finalement passent si vite. Non pas que je sous-estime la quantité de travail que j'ai effectué, simplement que cette thèse m'a permis d'observer, d'essayer et d'apprendre tellement de choses, que parfois on en oublie simplement le temps qui passe. Ce que je n'oublie pas par contre, ce sont les personnes grâce à qui j'ai pu faire ce que j'ai fait et qui m'ont aidé à devenir qui je suis aujourd'hui. Certaines sont là depuis le départ, d'autres depuis plus récemment, pour autant je réalise que toutes ont pu à leur manière participer à rendre ces 3 années si riches.*

*Je tiens dans un premier temps à exprimer mes sincères remerciements à l'ensemble des membres du jury qui m'ont fait l'honneur d'évaluer mon travail. Merci aux Pr. Nathalie Dupuy et Pr. Pierre Chalard pour avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse et pour leur temps consacré à l'évaluation de ce manuscrit. Je remercie également le Dr. Nadine Vallet et le Dr. Jean-François Maingonnat pour me faire l'honneur de juger ce travail de thèse et de participer à ce jury.*

*Merci Alain de m'avoir fait confiance et de m'avoir offert l'opportunité de travailler dans la société Celsius. Cette expérience m'a appris tant de choses, parfois même sans m'en rendre compte et m'a fait énormément grandir. Merci sincèrement pour tout ça.*

*Merci évidemment à Farid de m'avoir accueilli chaleureusement dans le laboratoire GREEN et d'avoir fait en sorte que je puisse travailler dans des conditions optimales tout au long de ces 3 ans. Un grand merci aussi pour ton encadrement, ta disponibilité et ta confiance !*

*Un merci tout particulier également à Njara, ma co-directrice de thèse, qui a su par sa gentillesse à toute épreuve et ses conseils avisés me mettre à l'aise lorsque j'ai débuté ma thèse ! J'espère avoir l'occasion de te rendre la pareille un jour et je te souhaite surtout plein de courage pour la suite.*

*Je tiens également à exprimer toute ma reconnaissance et mon amitié à toute l'équipe d'Austénite, notamment Mario, qui a su patiemment m'apprendre toutes les ficelles du métier de constructeur et me transmettre sa précieuse expérience. Ce fut un réel plaisir de partager tout ce temps avec toi et j'espère que tu vas enfin pouvoir profiter de ta retraite bien méritée !*

*Merci également à Maria, directrice de la plateforme d'éco-extraction de Valréas, qui m'a accueilli durant 1 an et qui m'a permis de faire mes expérimentations en toute sécurité. Cette année a été très*

*riche et même si elle a été ponctuée de moments difficiles, je ne retiendrai au final les nombreux moments de bonne humeur que nous avons passés avec Konan, Natacha et Fanny !*

*Je ne peux pas écrire ces remerciements sans penser à toute l'équipe du GREEN ! Merci à tous les « seniors » : Anne-Sylvie, Maryline, Sandrine, Karine, Manu et Julien qui m'ont si gentiment accueilli dans l'équipe et ont su m'apporter leur soutien, leur savoir-faire et leur bonne humeur tout au long de ma thèse ! Je n'oublie pas non plus Cyril et Simon, merci pour votre accueil et votre bonne humeur !*

*Un énorme merci à mes collègues et amis doctorants, post-doctorants et stagiaires qui m'ont accompagné et ont supporté mon humour durant 3 ans ! Merci sincèrement à Carolinette, AG, Cass', Magali, Clément, Alice M., Edinson, Emna, Meryem, Alice, Lolo, Léa, Boutheina, Elyas, Florian, Mathilde, Maud, Megan... J'en oublie sûrement beaucoup mais je sais qu'ils se reconnaîtront. Merci également aux chimistes : Alice, Anaïs, Adrien, Christophe, Damien, Elodie, Valou et bien entendu Emilie. Enfin un merci spécial à Natacha et Mohammad, mes deux mentors avec qui j'ai partagé de très bons moments et qui m'ont aidé à grandir et à devenir, je le crois, un meilleur scientifique.*

*Et pour finir, une grosse pensée pour ma famille qui m'ont toujours soutenu que ça soit par leur présence et ou par la pensée depuis la Bretagne.*



# Production scientifique

## Publications

- Rapinel, V., Breil, C., Makerri, C., Jacotet-Navarro, M., Rakotomanomana, N., Vallageas, A. & Chemat, F. (2017). Feasibility of using liquefied gas HFO-1234ze (1,3,3,3-tetrafluoroprop-1-ene) as an alternative to conventional solvents for solid–liquid extraction of food ingredients and natural products. *LWT - Food Science and Technology*, 83(1), 225–234.
- Rapinel, V., Rombaut, N., Rakotomanomana, N., Vallageas, A., Cravotto, G. & Chemat, F. (2017). An original approach for lipophilic natural products extraction: Use of liquefied *n*-butane as alternative solvent to *n*-hexane. *LWT - Food Science and Technology*, 85(B), 524–533.
- Rapinel, V., Santerre, C., Hanaei, F., Belay, J., Vallet, N., Rakotomanomana, N., Vallageas, A. & Chemat, F. Potentialities of using liquefied gases as alternative solvents to substitute hexane for the extraction of aromas from fresh and dry natural products. *Comptes Rendus Chimie*, in press.
- Rapinel V., Rombaut N., Rakotomanomana N., Vallageas A. et Chemat F. (2018), Les gaz liquéfiés comme solvants alternatifs appliqués pour l'extraction du végétal [J2775], Techniques de l'Ingénieur.

## Communications orales

- Rapinel, V. & Vallageas, A. *Les gaz liquéfiés : solvants alternatifs pour l'extraction de molécules naturelles*, Les rencontres B to B "SITech" - "Journée équipements et ingrédients biosourcés", 18 Mars 2016, Lyon - France.
- Rapinel, V., Rakotomanomana, N., Vallageas, A. & Chemat, F. *Liquefied gases: new alternative solvents for eco-extraction of natural products*, GENP2016 - Green Extraction of Natural Products, 2<sup>ème</sup> édition, 31 mai – 2 juin 2016, Turin – Italie.
- Vallageas, A & Rapinel, V. NECTACEL: l'extraction solide-liquide des molécules d'origine végétale ou animale par les gaz liquéfiés, PCH Meeting, 30 Mars 2017, Lyon - France.
- Marco Munoz, M. & Rapinel, V. *La production d'extraits naturels par éco-extraction, exemple d'extraction par gaz liquéfiés*, 7<sup>ème</sup> Journée Arômes et Parfums, 23 Juin 2017, Nice - France.

- 
- Rapinel, V., Rakotomanomana, N., Vallageas, A. & Chemat, F. *Liquefied gases as alternative solvents for extraction of natural products*, 6<sup>th</sup> International Congress on Green Process Engineering (GPE), 3-6 Juin 2018, Toulouse - France

### **Posters**

- Rapinel, V., Rombaut, N., Rakotomanomana, N., Vallageas, A. & Chemat, F. *Extraction of carotenoids from carrots chips using liquefied n-butane as solvent*, Fruit & Veg Processing - 2<sup>nd</sup> Euro-Mediterranean Symposium, 4 - 6 Avril 2016, Avignon - France.
- Rapinel, V., Rakotomanomana, N., Vallageas, A. & Chemat, F. *Liquefied gases as alternative solvents for extraction of natural products*, International Workshop on Alternative Solvents (WAS) – Synthesis, Extraction, Purification and Formulation , 28 - 29 Septembre 2017, Lyon - France.

# Table des matières



<b>REMERCIEMENTS .....</b>	<b>3</b>
<b>PRODUCTION SCIENTIFIQUE.....</b>	<b>5</b>
<b>TABLE DES MATIERES .....</b>	<b>7</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>12</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>15</b>
<b>CHAPITRE I - LES GAZ LIQUEFIES COMME SOLVANTS ALTERNATIFS APPLIQUES A L'EXTRACTION DU VEGETAL .....</b>	<b>22</b>
I.1. INTRODUCTION.....	23
I.2. GAZ LIQUEFIES : TERMINOLOGIE ET PRINCIPE .....	24
<i>I.2.1. Classification.....</i>	<i>24</i>
I.3. PRINCIPAUX TYPES DE GAZ LIQUEFIES ET LEURS UTILISATIONS .....	25
<i>I.3.1. Réfrigérants .....</i>	<i>25</i>
<i>I.3.2. Source d'énergie .....</i>	<i>25</i>
<i>I.3.3. Gaz propulseur pour aérosol .....</i>	<i>25</i>
<i>I.3.4. Autres applications.....</i>	<i>26</i>
I.4. LES GAZ LIQUEFIES EN TANT QUE SOLVANTS D'EXTRACTION .....	28
I.5. MISE EN ŒUVRE A L'ÉCHELLE INDUSTRIELLE .....	33
<i>I.5.1. Systèmes avec compresseur .....</i>	<i>33</i>
<i>I.5.2. Extraction par gaz liquéfiés vs extraction par fluide supercritique.....</i>	<i>36</i>
<i>I.5.3. Systèmes isobares.....</i>	<i>37</i>
<i>I.5.4. Transfert de solvant cuve à cuve .....</i>	<i>40</i>
<i>I.5.5. Etape de séchage final.....</i>	<i>41</i>
I.6. APPLICATIONS .....	41
<i>I.6.1. Extraction de composés odorants .....</i>	<i>42</i>
<i>I.6.2. Extraction d'huiles .....</i>	<i>43</i>
<i>I.6.3. Extraction de molécules bioactives.....</i>	<i>44</i>
I.7. ETUDE ECONOMIQUE .....	46
I.8. SECURITE ET REGLEMENTATIONS .....	47
<i>I.8.1. Sécurité des produits et des opérateurs .....</i>	<i>47</i>
<i>I.8.2. Réglementation .....</i>	<i>49</i>
I.9. EMPREINTE ECOLOGIQUE ET ECONOMIQUE.....	50
I.10. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	52
I.11. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	54
<b>CHAPITRE II - DESIGN AND MANUFACTURING OF PROTOTYPE EXTRACTION UNITS .....</b>	<b>58</b>
II.1. INTRODUCTION.....	59

II.2. GENERAL MANUFACTURING PROCESS .....	59
II.3. MANUFACTURING OF NECTACEL 1.....	62
II.3.1. Design .....	62
II.3.2. Manufacturing.....	63
II.4. NECTACEL 500 UPGRADE.....	65
II.4.1. Design .....	65
II.4.2. Manufacturing.....	65
II.5. CONCLUSION.....	67
<b>CHAPITRE III – MATERIALS AND METHODS .....</b>	<b>68</b>
III.1. PLANT MATERIALS .....	69
III.1.1. Carrots .....	69
III.1.2. Sunflower seeds.....	69
III.1.3. Caraway seeds.....	69
III.1.4. Olive leaves.....	70
III.1.5. Rosemary leaves .....	70
III.1.6. Rapeseeds.....	71
III.1.7. Lavender flowers .....	71
III.1.8. Orange peels.....	71
III.2. SOLVENTS AND REAGENTS.....	72
III.2.1. Extraction solvents .....	72
III.2.2. Analytical solvents.....	72
III.2.3. Reagents.....	73
III.2.4. Standards.....	73
III.3. COMPUTATIONAL METHODS.....	74
III.3.1. Hansen Solubility Parameters.....	74
III.3.2. COSMO-RS .....	74
III.4. EXTRACTION PROCEDURES .....	76
III.4.1. Liquefied gases apparatus and extraction procedure .....	76
III.4.2. Conventional reference methods.....	78
III.5. ANALYTICAL METHODS.....	80
III.5.1. Analysis of carotenoids by high performance liquid chromatography .....	80
III.5.2. Ultra Violet (UV) spectroscopy determination of total carotenoid content .....	80
III.5.3. Gas chromatography analysis of aromatic compounds .....	81
III.5.4. Gas chromatography analysis of fatty acids in sunflower oil .....	81
III.5.5. Gas chromatography analysis of fatty acids in rapeseed oil .....	81
III.5.6. HPTLC determination of lipid classes.....	82
III.5.7. Spectrophotometric determination of polyphenols content.....	83

III.5.8. Quantification of carnosic acid.....	83
III.5.9. GC-MS analysis of aromatic compounds.....	83
III.5.10. Sensory analysis of lavender and orange extracts.....	84
III.5.11. Observation of lavender flowers using scanning electron microscopy (SEM).....	85
III.6. REFERENCES.....	86
<b>CHAPITRE IV - N-BUTANE AS AN ALTERNATIVE TO N-HEXANE FOR EXTRACTION OF LIPOPHILIC COMPOUNDS</b>	<b>88</b>
IV.1. INTRODUCTION.....	89
IV.2. MATERIALS AND METHODS.....	90
IV.2.1. Materials.....	90
IV.2.1. Extraction and analytical methods.....	90
IV.2.2. n-butane as alternative solvent to n-hexane: properties comparison.....	91
IV.3. RESULTS AND DISCUSSION.....	92
IV.3.1. Evaluation of target compound solubility in n-butane and in n-hexane.....	92
IV.3.2. Experimental study.....	93
IV.4. SAFETY CONSIDERATIONS.....	96
IV.5. CONCLUSION.....	96
IV.6. REFERENCES.....	98
<b>CHAPITRE V – HFO-1234ZE AS SAFE LIQUEFIED GAS FOR EXTRACTION OF NATURAL PRODUCTS</b>	<b>103</b>
V.1. INTRODUCTION.....	104
V.2. MATERIALS AND METHODS.....	105
V.2.1. Materials.....	105
V.2.2. Extraction and analytical methods.....	106
V.2.3. Physicochemical properties comparison.....	106
V.3. RESULTS AND DISCUSSION.....	107
V.3.1. HFO-1234ze as alternative solvent to usual solvents: properties comparison.....	107
V.3.2. Evaluation of target compounds solubility in HFO-1234ze vs. usual solvents using Hansen Solubility Parameters and COSMO-RS.....	108
V.3.3. Qualitative and quantitative comparison of extracts from rapeseeds.....	110
V.3.4. Qualitative and quantitative comparison of extracts from dried carrots.....	113
V.3.5. Qualitative and quantitative comparison of extracts from olive leaves.....	113
V.3.6. Qualitative and quantitative comparison of extracts from rosemary leaves.....	114
V.4. CONCLUSION.....	115
V.5. REFERENCES.....	116
<b>CHAPITRE VI – LIQUEFIED GASES AS ALTERNATIVE SOLVENTS FOR EXTRACTION OF AROMATIC COMPOUNDS</b>	<b>119</b>

VI.1. INTRODUCTION .....	120
VI.2. MATERIALS AND METHODS .....	121
VI.2.1. <i>Materials</i> .....	121
VI.2.2. <i>Extraction and analytical methods</i> .....	122
VI.2.3. <i>Liquefied gases vs. n-hexane: determination of technical properties</i> .....	122
VI.3. RESULTS AND DISCUSSION .....	122
VI.3.1. <i>Liquefied gases as alternative solvents to n-hexane: properties comparison</i> .....	122
VI.3.2. <i>Evaluation of target compounds predicted solubility in liquefied gases and n-hexane using COSMO-RS model</i> .....	124
VI.3.3. <i>Quantitative and qualitative comparison of extracts from lavender flowers</i> .....	126
VI.3.4. <i>Quantitative and qualitative comparison of extracts from orange peels</i> .....	132
VI.4. CONCLUSION AND PERSPECTIVES.....	136
VI.5. REFERENCES .....	138
<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>142</b>
<b>LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX .....</b>	<b>147</b>

## Liste des abréviations

---

AISI : American Iron and Steel Institute

ATEX : ATmosphere Explosible

CA : Correspondance Analysis

CATA : Check All That Apply

CFC : ChloroFluoroCarbure

COSMO-RS : Conductor like Screening MOdel Real Solvent

COV : Composés organiques volatils

DAD : Diode Array Detector

DAG : DiAcylGlyceride

DM : Dry Matter

DME : DiMethyl Ether

FAME : Fatty Acid Methyl Esthers

FFA : Free Fatty Acid

FID : Flame Ionization Detector

GC : Gas Chromatography

GC-MS : Gas Chromatography – Mass Spectrometry

GHS : Globally Harmonized System of classification and labelling of chemicals

GPL : Gaz de pétrole liquéfié

GREEN : Groupe de Recherche en Eco-Extraction des produits Naturels

GWP : Global Warming Potential

HACCP : Hazard Analysis Critical Control Point

HAZOP : HAZard and OPerability studies

HCA : Hierarchical Cluster Analysis

HD : Hydrodistillation

HFC : HydroFluoroCarbure

HFO : HydroFluoroOlefin

HFO-1234ze : 1,3,3,3-tetrafluoropropene

HFO-1234yf : 2,3,3,3-tetrafluoropropene

HPLC : High Performance Liquid Chromatography

HPTLC : High Performance Thin Layer Chromatography

HSP : Hansen Solubility Parameters

ISIPCA : Institut Supérieur International du Parfum, de la Cosmétique et de l'Aromatique alimentaire

ISO : International Organization for Standardization

LGE : Liquefied Gas Extraction

MAG : MonoAcylGlyceride

ODP : Ozone Depletion Potential

$P_c$  : Pression critique

PED : Pressure Equipment Directive

PEEV : Plateforme d'Eco-Extraction de Valréas

PID : Piping and Instrumentation Diagram

R134a : 1,1,1,2-tetrafluoroethane (ou TFE)

SD : Standard Deviation

SM : Starting Material

SMILES : Simplified Molecular Input Line Entry Specification

TAG : TryAcylGlyceride

TBME : Methyl *tert*-butyl ether

$T_c$  : Température critique

TMSH : TriMethylSulfonium Hydroxide

UV : UltraViolet

# Introduction générale



**D**epuis quelques années, le domaine de l'extraction végétale est en pleine évolution étant donné l'intérêt croissant des consommateurs pour des ingrédients d'origine naturelle. Parallèlement, l'industrie de l'extraction a opéré une mutation en opérant un virage vers les procédés d'extractions « verts », poussée tant par la recherche d'une production de qualité que par le durcissement de la réglementation visant à protéger la santé des consommateurs et l'environnement. La recherche et développement de nouveaux procédés d'extraction végétale s'est donc largement intensifiée ces dernières années, aussi bien pour des applications en agroalimentaire, cosmétique ou pharmaceutique. Avec les préoccupations environnementales et sociétales inhérentes au secteur industriel d'aujourd'hui, il est désormais nécessaire d'inventer ou de réinventer des procédés d'extraction permettant de réduire la consommation énergétique, la toxicité et la quantité de solvant utilisé, la quantité de déchets générés mais également d'augmenter sélectivité d'extraction et la qualité de l'extrait obtenu. Pour cela, il est possible d'intégrer dans les procédés des innovations technologiques, qu'elles soient relatives au solvant ou au type de procédé lui-même.

Les travaux de cette thèse intitulée « Les gaz liquéfiés comme solvants alternatifs pour l'éco-extraction de produits naturels » s'intègrent dans ces problématiques. L'objectif principal est d'évaluer le potentiel des gaz liquéfiés comme alternatives aux solvants d'extractions toxiques usuels, en particulier l'hexane, utilisé en grande quantité pour l'extraction des produits naturels. Les gaz liquéfiés et notamment le butane, permettent en effet d'extraire des composés lipophiles à température ambiante et pression modérée (1 - 10 bar) avec une faible consommation énergétique et sans laisser de traces dans le produit final, contrairement à l'hexane.

Cette thèse industrielle est pilotée par l'équipe GREEN au sein de l'UMR408 SQPOV INRA-UAPV, en partenariat avec la société CELSIUS, constructeur d'installations industrielles qui a développé un procédé d'extraction utilisant les gaz liquéfiés (Figure 0. 1). Une grande partie des travaux ont été menés à la plateforme technologique d'éco-extraction de Valréas (PEEV) hébergée au sein de la « cité du Végétal », regroupant l'ensemble des nouvelles technologies d'éco-extraction et dont l'inauguration en Septembre 2016 s'inscrit dans une volonté de la région Provence-Alpes-Côte d'Azur de devenir un territoire de référence en matière de naturalité.

Les objectifs généraux de cette thèse sont :

- Evaluer l'apport de cette technologie d'extraction sur une sélection de matières premières d'origine naturelle par rapport aux procédés utilisant des solvants pétroliers usuels ;

- Evaluer efficacement la performance des gaz liquéfiés comme solvants vis-à-vis de familles de molécules d'intérêt à l'aide d'outils d'aide à la décision tels que les modèles COSMO-RS et HSP ;
- Accompagner scientifiquement l'amélioration continue du procédé d'extraction et de(s) équipement(s) utilisé(s).

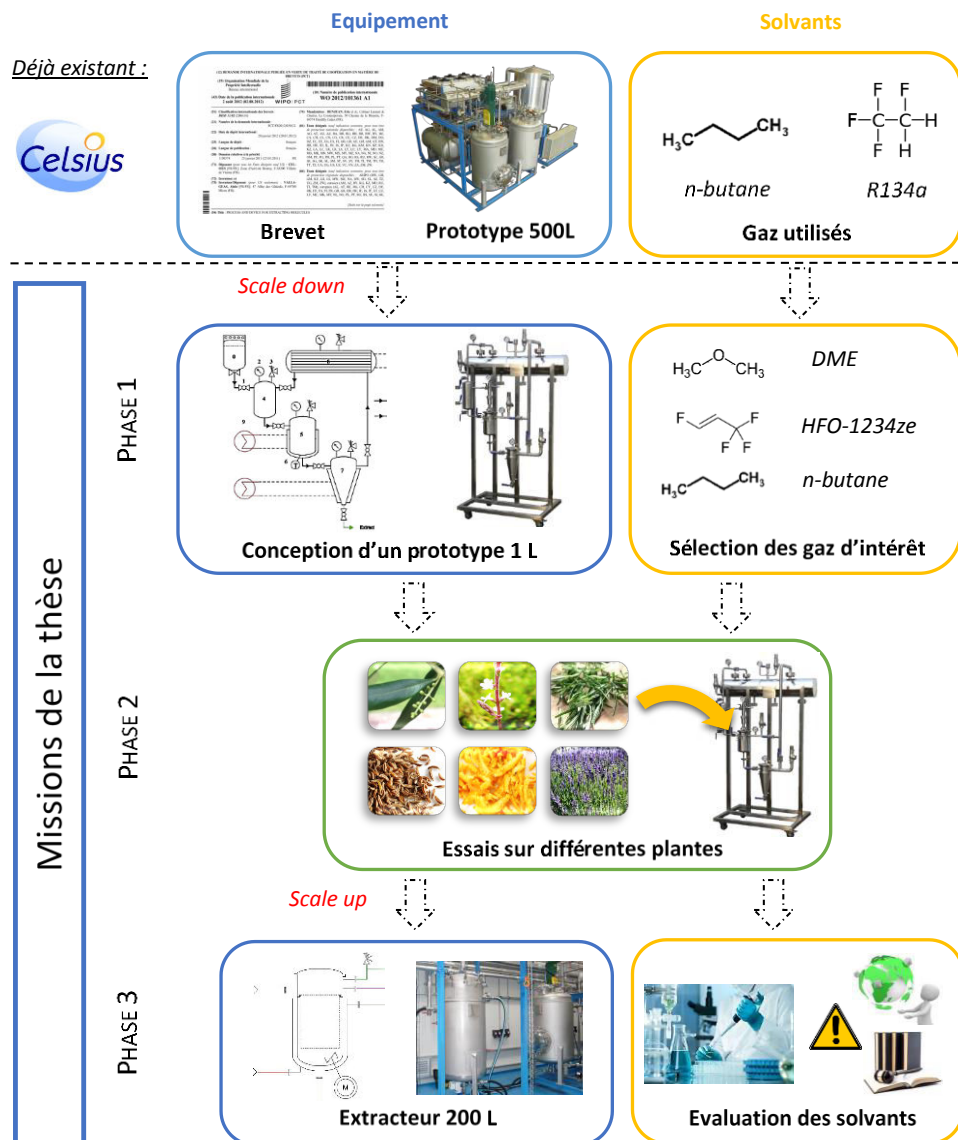


Figure 0. 1 - Objectifs du projet de thèse

Afin de traiter au mieux ces problématiques, ce manuscrit se décline en 6 chapitres :

Le chapitre I présentera une étude de l'état de l'art sur l'utilisation des gaz liquéfiés pour l'éco-extraction des produits naturels. Après avoir défini les principaux types de gaz liquéfiés et leurs utilisations, ce chapitre s'articulera en 4 grandes questions :

1. Quelles propriétés font que les gaz liquéfiés sont de bons solvants d'extraction ?
2. Selon quels procédés sont-ils mis en œuvre à l'échelle industrielle ?
3. Quelles sont les applications potentielles et actuelles des gaz liquéfiés ?
4. Quels impacts ces procédés ont-ils en termes de sécurité, de réglementation et d'empreinte écologique ?

Ce travail préliminaire permettra également de sélectionner les gaz liquéfiés qui seront utilisés comme solvants dans la suite de cette étude : *n*-butane, HFO-1234ze et éther diméthylque.

Le chapitre II illustrera la conception et la fabrication du pilote d'extraction de 1L qui a été utilisé par la suite pour la réalisation des essais d'extractions et pour l'optimisation du procédé. Il abordera également l'amélioration du pilote de 500 L déjà existant par la fabrication d'une nouvelle cuve plus facile à utiliser.

Le chapitre III s'attachera à décrire la méthodologie expérimentale adoptée au cours de ces travaux en présentant les matières premières et les solvants étudiés, les procédés d'extraction et les méthodes d'analyse employés.

Le chapitre IV traitera de la première série d'essais qui a été menée sur le pilote laboratoire, à l'aide de *n*-butane, dans le but d'extraire des composés lipophiles. Les extractions ont été réalisées sur 3 matières premières différentes, chacune étant représentative d'un marché potentiel pour le procédé d'extraction par gaz liquéfié. Ainsi, l'extraction d'arômes a été mise en œuvre à partir de graines de carvi (*Carum carvi* L.), l'extraction de caroténoïdes à partir de carottes (*Daucus carota* L.) et l'extraction d'huile à partir de graines de tournesol (*Helianthus annuus* L.). Deux approches seront utilisées pour évaluer l'apport du *n*-butane par rapport au *n*-hexane : une première approche théorique à l'aide d'un outil prédictif (COSMO-RS) et une approche expérimentale comparant les rendements d'extraction, ainsi que la qualité des extraits obtenus par rapport à ceux obtenus avec le *n*-hexane (Figure 0. 2). Cette première étude préliminaire sera également l'occasion de tester le pilote de 1L construit pour l'occasion et de proposer des améliorations à apporter pour le rendre plus performant.

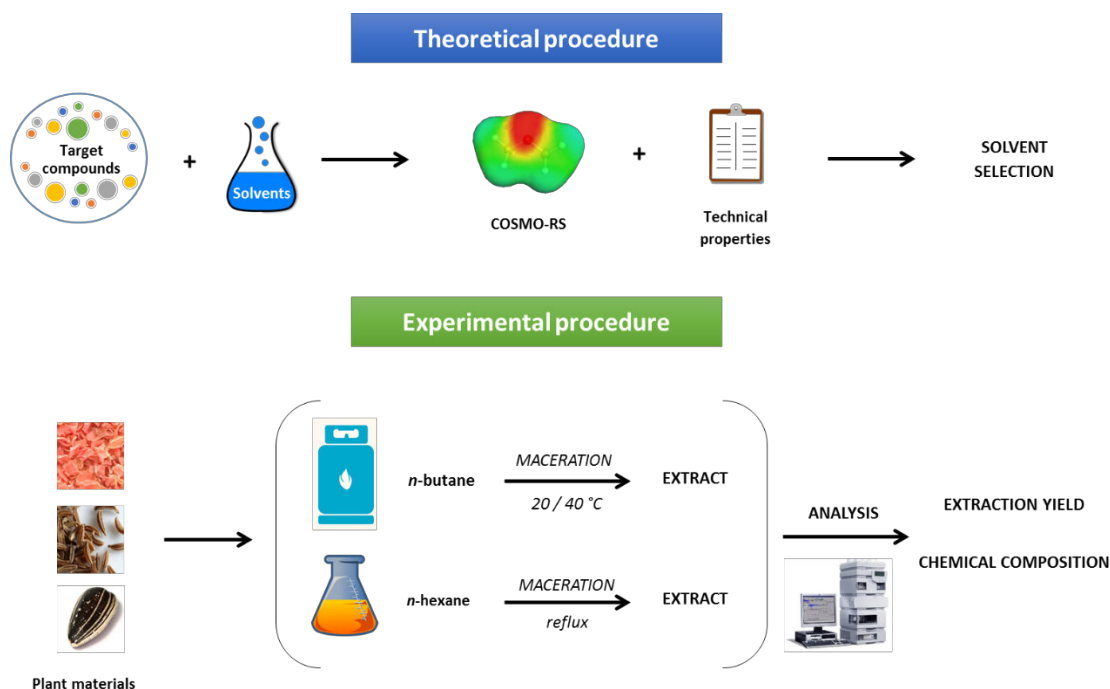


Figure 0. 2 - Extraction par *n*-butane de produits naturels

A la suite de ce travail, le chapitre V présentera les résultats obtenus à l'aide de HFO-1234ze, un nouveau gaz liquéfié fluoré, pour l'obtention de composés apolaires ou non. Pour cela, 4 plantes ont été sélectionnées : les graines de colza (*Brassica napus* L.) pour l'extraction d'huile, les carottes (*Daucus carota* L.) pour l'extraction de carotènes, les feuilles d'olivier (*Olea europaea*) pour l'extraction de polyphénols et enfin les feuilles de romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) pour l'extraction de l'acide rosmarinique et de l'acide carnosique. Là encore, l'étude du potentiel du HFO-1234ze par rapport aux solvants conventionnels a été menée selon une approche prédictive à l'aide des modèles HSP (Paramètres de Solubilité de Hansen) et COSMO-RS, couplée à des essais d'extraction sur le pilote laboratoire (Figure 0. 3). Suite aux remarques formulées après les essais au *n*-butane, un système d'agitation a été rajouté à l'extracteur afin d'augmenter la performance de l'extraction. Les extraits obtenus ont été comparés d'un point de vue quantitatif et qualitatif par rapport à des solvants conventionnels afin de juger le potentiel de ce nouveau gaz liquéfié.

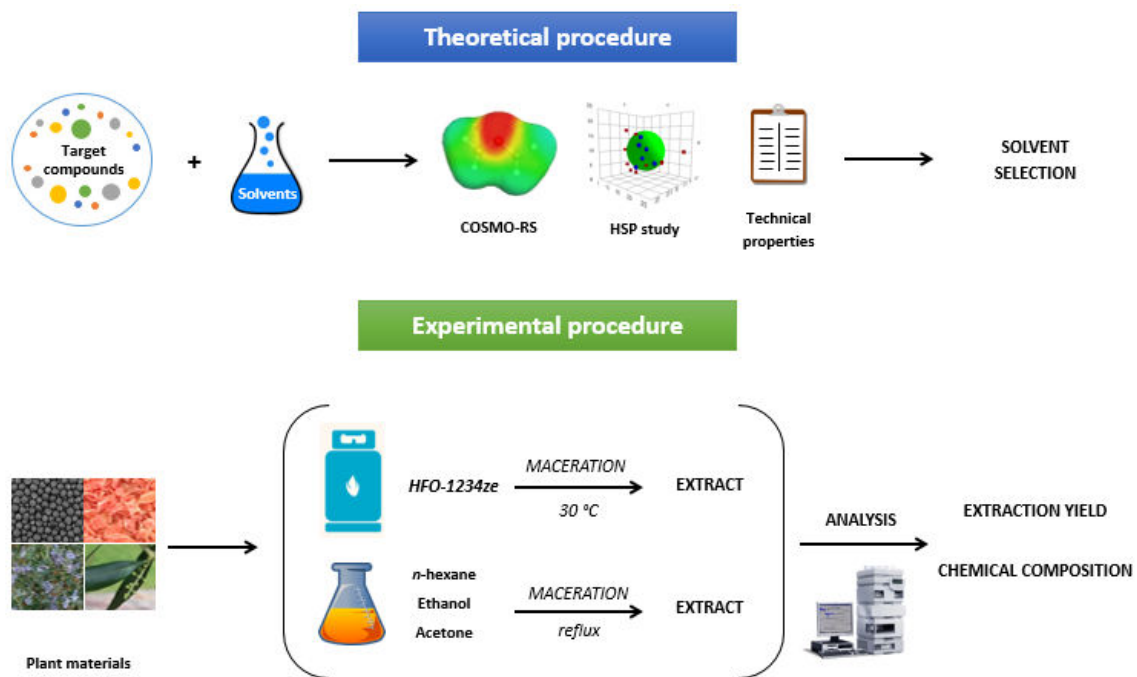


Figure 0. 3 - Extraction par HFO-1234ze de composés naturels

Enfin, le chapitre VI proposera quant à lui une étude comparative entre 3 gaz liquéfiés (*n*-butane, HFO-1234ze et éther diméthylque) en vue de leur utilisation comme solvant pour l'extraction d'arômes et parfums. Pour cela, 2 matières premières ont été sélectionnées : des fleurs de lavande sèches (*Lavandula angustifolia* Mill.) et des écorces d'orange fraîches (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). En plus de l'étude in silico menée grâce au modèle COSMO-RS, les extraits obtenus à l'aide des 3 gaz ont été comparés d'un point de vue quantitatif et qualitatif (analyses chimique et sensorielle) à ceux obtenus à l'aide de *n*-hexane (Figure 0. 4) et par hydrodistillation. Parallèlement à cette étude, une étude par microscopie électronique à balayage a été menée sur les fleurs de lavande avant et après extraction afin d'évaluer l'influence de la pression sur l'intégrité structurale des glandes sécrétrices d'huile essentielle. Cette étude comparative, associée aux 2 précédentes, a permis de mettre en lumière les avantages et les inconvénients liés à chacun des gaz liquéfiés.

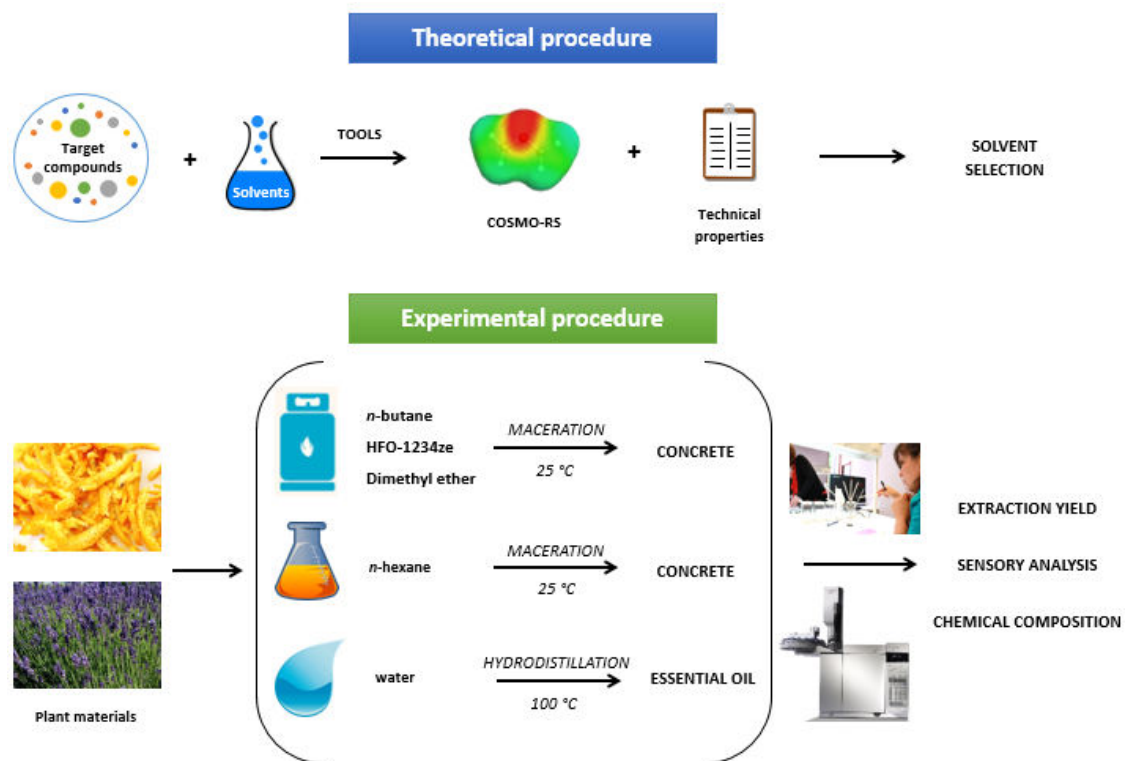


Figure 0. 4 – Extraction d'arômes à l'aide de 3 gaz liquéfiés

En résumé, les objectifs de ce travail de thèse sont :

- Sélectionner les gaz liquéfiés compatibles avec une utilisation à l'échelle industrielle
- Concevoir et fabriquer une unité d'extraction pilote à l'échelle laboratoire
- Evaluer efficacement la performance des gaz liquéfiés sélectionnés (*n*-butane, HFO-1234ze, éther diméthylique) pour l'extraction de composés lipophiles (arômes, huiles, caroténoïdes) à l'aide d'outils prédictifs et d'essais au laboratoire ;
- Proposer des axes d'amélioration techniques des équipements construits par Celsius.

Pour terminer, les principales conclusions de ce travail seront dégagées et des perspectives d'études et d'optimisation futures seront proposées.

# Chapitre I - Les gaz liquéfiés comme solvants alternatifs appliqués à l'extraction du végétal

Rapinel V., Rombaut N., Rakotomanomana N., Vallageas A. et Chemat F. (2018), Les gaz liquéfiés comme solvants alternatifs appliqués pour l'extraction du végétal [J2775], Techniques de l'Ingénieur.

## I.1. Introduction

La première utilisation connue des gaz liquéfiés comme solvant d'extraction de produits naturels remonte à 1930 aux USA avec un procédé breveté par E. R. Ebenezer pour l'extraction d'huiles à partir de graines oléagineuses. En France, les gaz liquéfiés ont été utilisés la première fois en 1940 pour l'extraction de composés odorants à partir de matières premières fragiles, en particulier des fleurs.

Le *n*-butane a été le premier gaz liquéfié à avoir été mis en œuvre car son point d'ébullition (-1 °C) permet de le liquéfier aisément sous faible pression pour extraire des molécules lipophiles, mais sans pour autant laisser de trace dans le produit final une fois évaporé. Depuis, de nouveaux gaz liquéfiés ont été testés et de nouvelles applications sont apparues, principalement liées à l'extraction d'huiles végétales et d'extraits odorants. Bien qu'ils soient efficaces et ne laissent aucune trace dans l'extrait final, ils ont été délaissés pour des raisons économiques au profit d'autres solvants organiques pétrochimiques (hexane, benzène, toluène, dichlorométhane...) alors plus simples à mettre en œuvre industriellement.

Cependant, l'intérêt croissant du marché des ingrédients vers des produits d'origine naturelle de qualité supérieure, associé au durcissement de la réglementation visant à protéger notre environnement mais surtout la santé des opérateurs et des consommateurs, a poussé les industriels à rechercher des alternatives plus en phase avec les principes de la chimie verte. La recherche académique et industrielle a permis de trouver plusieurs solvants alternatifs, néanmoins aucun d'entre eux n'a pour l'instant réussi à supplanter l'hexane dans l'industrie. L'alternative la plus sérieuse est l'utilisation de procédés d'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique, qui permet d'extraire efficacement des composés lipophiles à des températures généralement modérées (de 30 et 70 °C) et sans laisser de traces dans l'extrait. Néanmoins, les pressions nécessaires pour atteindre l'état supercritique (entre 100 et 1 000 bar, selon la température du procédé) limite son utilisation à des produits à très haute valeur ajoutée du fait du coût d'investissement important pour une installation industrielle. Ce frein au développement des procédés au CO<sub>2</sub> supercritique a permis aux gaz liquéfiés de devenir des alternatives tout à fait crédibles aux solvants existants, puisqu'ils permettent eux aussi d'extraire des composés lipophiles à température ambiante, sans laisser de traces dans le produit final, avec une faible consommation énergétique et pression modérée (1 à 10 bar) qui facilite davantage sa mise en œuvre à l'échelle industrielle.

Il n'existe en 2018 que très peu d'études traitant de l'utilisation des gaz liquéfiés comme solvants d'extraction à l'échelle industrielle. Afin de permettre aux lecteurs mieux appréhender le procédé de façon globale, cet article présentera :



- Les principaux types de gaz liquéfiés et en quoi ils sont potentiellement de bons solvants ;
- Comment ces gaz liquéfiés sont mis en œuvre industriellement pour extraire des composés d'intérêt ;
- Les applications existantes et potentielles;
- Les impacts en termes de sécurité, de réglementation et d'empreinte environnementale.

## I.2. Gaz liquéfiés : terminologie et principe

### I.2.1. Classification

On recense actuellement plus de 200 gaz utilisés en industrie [1]. Si certains sont stockés en phase gazeuse, beaucoup sont d'abord liquéfiés par compression ou refroidissement afin d'être plus facilement transportés et stockés dans des bouteilles, réservoirs, conteneurs sur des semi-remorques ou cargos méthaniers. Dans un premier temps, il est nécessaire de distinguer deux catégories de gaz liquéfiés :

- **les liquides cryogéniques** : ces gaz ont une température d'ébullition inférieure à  $-90^{\circ}\text{C}$  et sont transportés à des températures inférieures ou égales à leur température d'ébullition afin de limiter la pression dans le conteneur. On peut citer comme exemples l'azote, l'hélium, le méthane...
- **les gaz liquéfiés**, stockés liquides à température ambiante à des pressions modérées (comprises entre 1 et 100 bar). Ces composés ont des températures d'ébullition comprises entre  $-90^{\circ}\text{C}$  et  $10^{\circ}\text{C}$ . Dans un contenant pressurisé, ces gaz sont liquéfiés sous leur propre pression de vapeur ; le gaz à l'état liquide est alors en équilibre avec sa phase gazeuse (Figure I. 1). On peut citer comme exemples le propane, le butane...

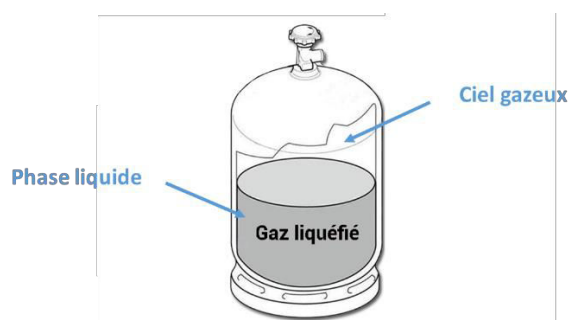


Figure I. 1 - Gaz liquéfié stocké dans une bouteille sous pression

### I.3. Principaux types de gaz liquéfiés et leurs utilisations

L'utilisation des gaz liquéfiés dès le début du 19<sup>e</sup> siècle en tant que réfrigérants, carburants et gaz propulseur pour aérosols [1] a été facilitée par (i) l'émergence de solutions techniques liées à la mise en œuvre de fluides sous pression (vannes, raccords, compresseurs...) et (ii) les conditions de transport et de stockage relativement modérées (pressions inférieures à 100 bar à température ambiante). Bien que la nature des gaz liquéfiés impliqués dans ces applications ait évolué depuis pour des raisons technologiques et réglementaires, ces applications restent actuelles. Les propriétés de quelques gaz liquéfiés sont présentées dans le Tableau I. 1.

#### I.3.1. Réfrigérants

Lorsqu'ils se vaporisent, les gaz liquéfiés absorbent de grandes quantités de chaleur (enthalpie de vaporisation), ce phénomène est mis à profit dans les circuits d'équipements réfrigérants. Bien que tous les gaz liquéfiés puissent être potentiellement utilisés à des fins de réfrigération, les gaz fluorés de type chlorofluorocarbures (CFC), puis hydrofluorocarbures (HFC) ont été le plus fréquemment utilisés depuis 1930. Depuis, la mise en œuvre des CFC puis des HFC est restreinte voire interdite à cause de leur effet négatif sur la couche d'ozone et de leur impact élevé sur l'effet de serre. Plus récemment, les hydrofluoroléofines (HFO) ont été développés en tant que gaz réfrigérants de seconde génération pour substituer les CFC et HFC.

#### I.3.2. Source d'énergie

Autre application connue des gaz liquéfiés, le stockage en bouteille de propane, butane, ou un mélange des deux, permet d'avoir un combustible portatif d'appoint et les utilisations domestiques sont devenues courantes à partir des années 1910. Le GPL (gaz de pétrole liquéfié) – mélange essentiellement composé de propane et butane - est également utilisé en tant que carburant dans le secteur automobile.

#### I.3.3. Gaz propulseur pour aérosol

A partir de 1940 et l'invention des sprays aérosols, les gaz liquéfiés sont employés comme gaz propulseurs pour la dispersion de différents liquides (insecticides, laque, peinture etc.). Jusqu'en 1989, les CFC étaient majoritairement utilisés, mais ceux-ci ont été progressivement remplacés par des gaz liquéfiés de moindre impact environnemental : les HFC, les alcanes légers (propane, *n*-butane, isobutane) ou l'éther diméthylque (en anglais « *dimethyl ether* » ou « DME »).

#### **I.3.4. Autres applications**

Les autres applications des gaz liquéfiés incluent la découpe, la soudure, la conservation alimentaire (stérilisation), la congélation, le nettoyage de pièces métalliques et la micronisation. L'utilisation de gaz liquéfiés est également reportée dans des réactions chimiques (média de réaction ou intermédiaire de réaction). Plus récemment, les gaz liquéfiés sont employés en tant que solvants d'extraction.



## I.4. Les gaz liquéfiés en tant que solvants d'extraction

L'utilisation de gaz liquéfiés dans un procédé qui puisse être facilement transposable à l'échelle industrielle implique quelques critères de sélection liés à des considérations techniques. Les deux critères thermodynamiques suivants sont en particulier essentiels pour qu'ils soient utilisables en industrie :

- Une température d'ébullition à pression atmosphérique comprise entre  $-30^{\circ}\text{C}$  et la température ambiante ( $+ 20^{\circ}\text{C}$ ), afin de permettre de condenser le gaz à des températures raisonnablement atteignables à l'échelle industrielle ;
- Une pression de vapeur inférieure à 10 bar à température ambiante afin de limiter le coût d'investissement des équipements sous pression.

Ces critères permettent de sélectionner un nombre limité de solvants (voir Tableau I. 1) duquel il faut éliminer les gaz toxiques pour l'homme ou l'environnement ainsi que les gaz à effet de serre ou appauvrissant la couche d'ozone. Au final, seuls moins d'une dizaine de gaz liquéfiés sont raisonnablement utilisables comme solvant d'extraction à l'échelle industrielle. Parmi ces derniers, les plus fréquents sont le propane, le butane, l'éther diméthylique et le 1,1,1,2-tétrafluoroéthane (remplacé d'ici 2020 par le 1,3,3,3-tétrafluoropropène et le 2,3,3,3-tétrafluoropropène) dont les courbes de pression de vapeur sont présentées Figure I. 2

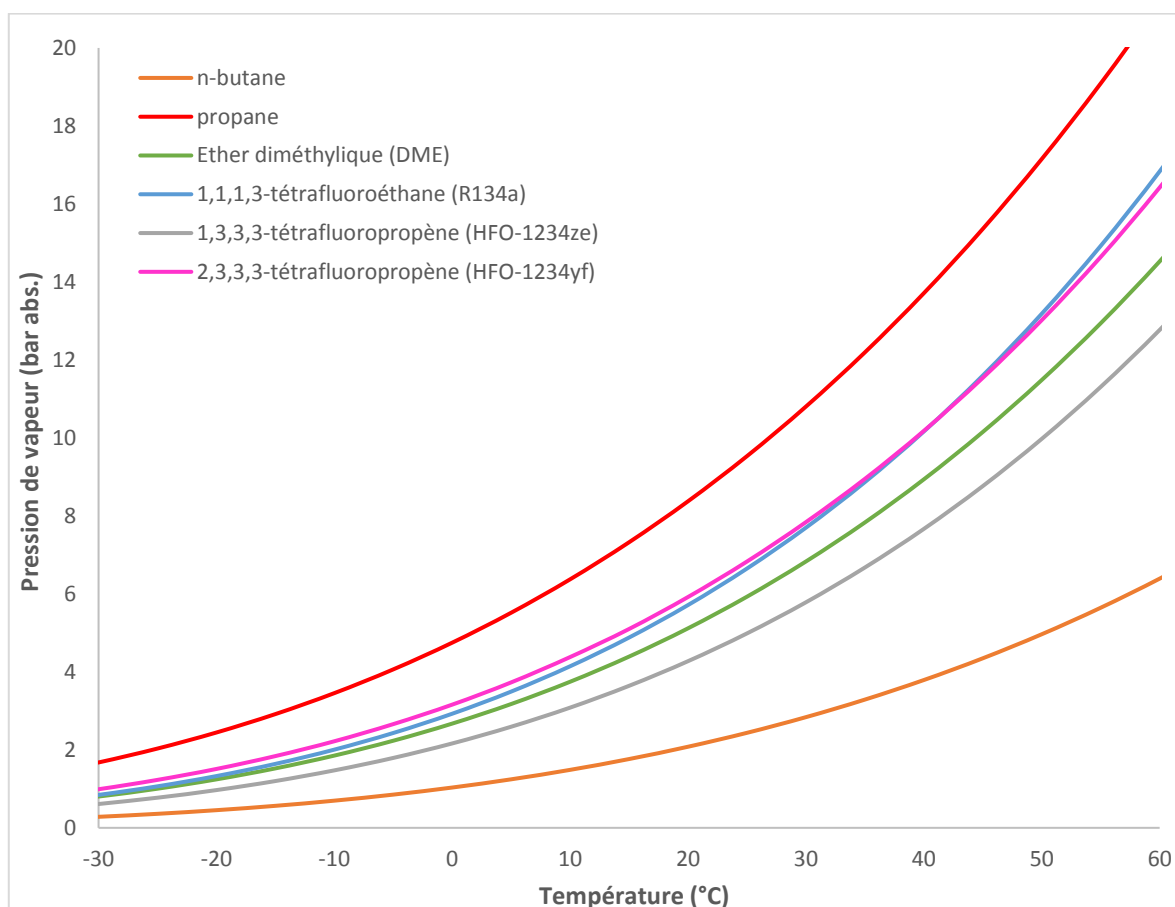


Figure I. 2 - Courbes de pression de vapeur des gaz liquéfiés compatibles

À l'état liquide, les gaz liquéfiés ont des propriétés proches de celles des liquides usuels en termes de masse volumique, de viscosité et de diffusivité comme le montre le Tableau I. 2. Leur plus faible viscosité et leur meilleur coefficient d'auto-diffusion en font même théoriquement de meilleurs solvants d'extraction en favorisant le transfert de matière.

Les principaux avantages des gaz liquéfiés par rapport aux autres solvants conventionnels tels que les fluides supercritiques et les solvants liquides (eau et solvants organiques), se situent dans leur mise en œuvre :

- **basse température** : grâce à leur bas point d'ébullition, les gaz liquéfiés peuvent être évaporés à des températures modérées, généralement comprises entre 20°C et 50°C, sans pour autant risquer d'entraîner les molécules d'intérêt, même volatiles, et sans laisser de traces de solvant résiduel.
- **pression modérée** : par comparaison aux fluides supercritiques, les gaz liquéfiés sont généralement mis en œuvre à des pressions beaucoup plus basses, entre 1 et 10 bar, ce qui limite les coûts d'investissement.

- **inertie chimique** : dans les conditions « normales » d'extraction solide/liquide, la majorité des gaz liquéfiés est chimiquement inerte.

Néanmoins, il est important de noter que la plupart des hydrocarbures (propane, butane, éther diméthylque, ammoniac, ainsi que certains gaz fluorés) sont inflammables et doivent être manipulés dans un environnement adapté à l'écart de toute source de chaleur, en utilisant des équipements spécifiques, certifiés selon la directive européenne ATEX (*ATmospheres EXplosibles*) 2014/34/UE. Cette contrainte, outre le danger qu'elle représente vis à vis des opérateurs, engendre un surcoût lors de l'achat du matériel qu'il convient de prendre en compte lors du choix du solvant d'extraction.

Tableau I. 2 - Comparaison des gammes de densité, viscosité et coefficient d'autodiffusion pour les gaz liquéfiés, les liquides usuels, les gaz et les fluides supercritiques d'après [2-4].

Fluide	Densité (kg.m <sup>-3</sup> )	Viscosité (cP)	Coefficient d'auto-diffusion (cm <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )
<b>Gaz liquéfiés</b> (P <sub>vap</sub> ; 25 °C)	500 à 1300	0,1 à 0,2	4.10 <sup>-5</sup> - 7.10 <sup>-5</sup>
<b>Liquides</b> (P <sub>atm</sub> ; 30 °C)	600 à 1600	0,2 à 3	0,2.10 <sup>-5</sup> – 2,0.10 <sup>-5</sup>
<b>Gaz</b> (P <sub>atm</sub> ; 30 °C)	0,6 à 2	1.10 <sup>-2</sup> - 3.10 <sup>-2</sup>	0,1 - 0.4
<b>Fluides supercritiques</b> (P>P <sub>c</sub> , T>T <sub>c</sub> )	200 à 500	1.10 <sup>-2</sup> - 3.10 <sup>-2</sup>	0,7.10 <sup>-3</sup>

Selon leur structure chimique, les gaz liquéfiés présentent des propriétés de solvation particulières qui vont conditionner leur choix en tant que solvant pour des molécules hydrophiles ou lipophiles. Au regard de leur structure chimique (Figure I. 3-A) et de leur valeur de log P, la majorité des gaz liquéfiés sont de bons candidats pour l'extraction de molécules lipophiles, même si certains d'entre eux (éthers, amines...) sont susceptibles d'extraire également des molécules plus hydrophiles.

Il est à noter que le DME (éther diméthylque) se différencie des autres gaz liquéfiés puisqu'il présente à l'état liquide un domaine de miscibilité avec l'eau : le DME à l'état liquide à 25°C (590 kPa) est miscible avec l'eau jusqu'à 34% (g/g), soit une solubilité dans l'eau de 515 g/L, tandis qu'à l'inverse, l'eau est miscible dans le DME jusqu'à hauteur de 7% (g/g) [5]. Cette particularité permet au DME de co-extraire l'eau de constitution des matières premières, qui agit alors comme un co-solvant pour l'extraction de molécules plus hydrophiles. De plus, la miscibilité eau/DME, couplé à sa capacité à dissoudre les phospholipides membranaires, facilite grandement l'extraction des composés d'intérêt localisés dans le milieu intra-cellulaire.

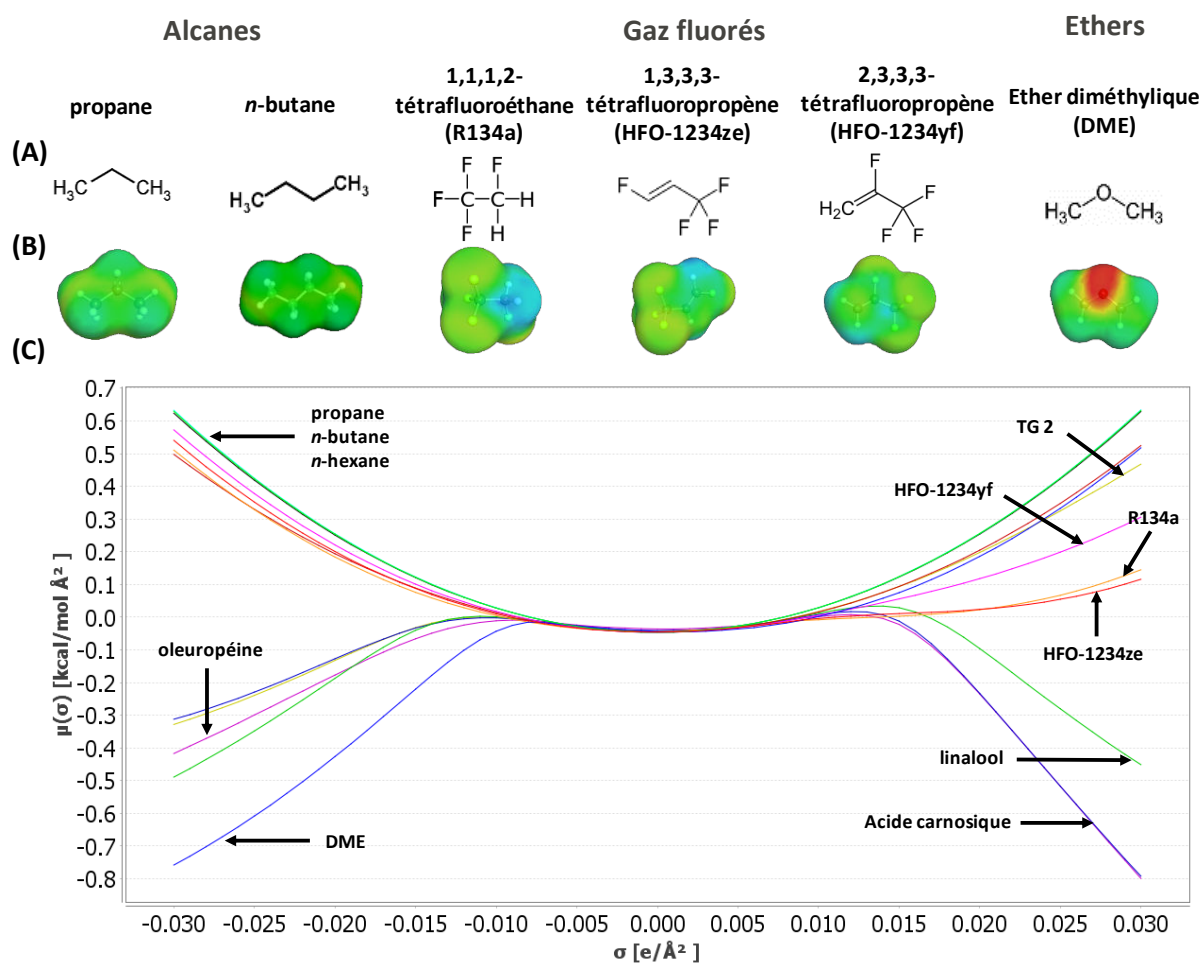


Figure 1.3 - (A) Structures chimiques des principaux gaz liquéfiés utilisés en extraction (B) Répartition de la densité de charge ( $\sigma$ -surfaces) (C)  $\sigma$ -potentiels des gaz liquéfiés et de quelques molécules d'intérêt

Une évaluation plus approfondie de leur pouvoir de solubilisation a été menée à l'aide d'un modèle prédictif, COSMO-RS (COnductor-like Screening MOdel for Real Solvents), connu pour être un précieux outil de décision pour la sélection de solvants d'extraction [6–8]. Ainsi, les pouvoirs de solubilisation de quelques gaz liquéfiés comparativement au *n*-hexane sont illustrés à titre indicatif pour différents composés modèles (caroténoïdes, terpènes, acides gras, polyphénols) *via* le calcul, à l'aide du modèle prédictif COSMO-RS, de leur  $\sigma$ -potentiels (Figure 1.3-C) puis de leur solubilité relative dans chaque solvant par rapport au meilleur solvant (Tableau I.3) [9]. Les résultats sont exprimés en  $\log(x_{\text{solut}})$ , avec  $x_{\text{solut}}$  la fraction molaire de composé dissous, relativement au meilleur solvant. Ainsi, une valeur de  $\log(x_{\text{solut}})=0$  indique une forte probabilité que le composé soit soluble dans le solvant, à l'inverse une valeur de  $\log(x_{\text{solut}})<0,5$  indique une faible solvatation, comparativement au meilleur solvant de la liste.



Tableau I. 3 - Comparaison de solubilités relatives [ $\log(x_{\text{solub}})$ ] de composés dans les gaz liquéfiés en comparaison au *n*-hexane (données établies à 30 °C)

	$\beta$ -carotène	lycopène	$\alpha$ -pinène	linalool	acide carnosique	acide rosmarinique	TAG 1 *	TAG 2 **	tyrosol	oleuropéine
<i>n</i> -hexane	-0,03	-0,25	0,00	-1,17	-1,86	-4,17	0,00	0,00	-3,08	-7,08
<i>n</i> -propane	0,00	0,00	-0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>n</i> -butane	0,00	0,00	0,00	-1,06	-2,12	-3,90	0,00	0,00	-3,04	-6,70
DME	0,00	0,00	0,00	-1,12	-1,74	-4,05	0,00	0,00	-3,07	-6,90
HFO-1234yf	-0,30	-0,11	-0,44	-0,78	-1,30	-2,26	-0,23	-0,43	-2,11	-4,27
HFO-1234ze	-0,38	-0,03	-0,56	-0,39	-0,83	-1,26	0,00	0,00	-1,44	-2,40

\* TAG 1 = Triglycéride 1 : R1= C18:2 n-6 ; R2= C18:1 n-9 ; R3= C18:1 n-9 ; TAG 2 = Triglycéride 2 : R1= C18:2 n-6 ; R2= C18:1 n-9 ; R3= C16:0

Les résultats de cette simulation montrent que : le propane et le *n*-butane sont capables de solubiliser des molécules fortement lipophiles (caroténoïdes, triglycérides, certains terpènes) mais pas ou peu des composés plus polaires, à l'instar du *n*-hexane ; dans une moindre mesure les tétrafluoropropènes (HFOs) sont capables d'extraire des molécules lipophiles; l'éther diméthylque est le solvant le plus « polyvalent » dans le sens où il est capable d'extraire à la fois des composés lipophiles (caroténoïdes, terpènes, triglycérides...) et également des composés plus polaires (terpènes oxygénés, polyphénols...).

## 1.5. Mise en œuvre à l'échelle industrielle

Les propriétés particulières des gaz liquéfiés employés, notamment leur bas point d'ébullition, facilitent les étapes d'évaporation / condensation du solvant et incitent les constructeurs à développer des unités d'extraction intégrant le circuit de recyclage du solvant. De cette façon, les extractions peuvent être réalisées au choix en mode batch (discontinu) ou semi-continu (solvant renouvelé en permanence).

On peut distinguer deux types d'unités d'extraction industrielles mettant en œuvre des gaz liquéfiés, en fonction de leur fonctionnement thermodynamique : les unités fonctionnant selon un cycle thermodynamique type « pompe à chaleur », avec une phase de compression suivie d'une phase de détente, et les unités fonctionnant selon un mode isobare (pression constante).

### 1.5.1. Systèmes avec compresseur

Les systèmes « compression / détente » englobent les systèmes dans lesquels la circulation du solvant (gaz liquéfié) est générée par un compresseur (Figure I. 4), selon un cycle thermodynamique continu semblable à ceux des groupes frigorifiques (compression – condensation – détente – évaporation). Lors de ce cycle, le solvant est présent sous forme liquide dans l'extracteur puis est évaporé par détente dans un évaporateur pour isoler l'extract. Les vapeurs de solvants sont ensuite compressées pour être condensées à température ambiante dans un condenseur aérotherme, sans besoin d'avoir recours à un réseau de distribution de froid (eau froide, eau glycolée, saumure etc...).

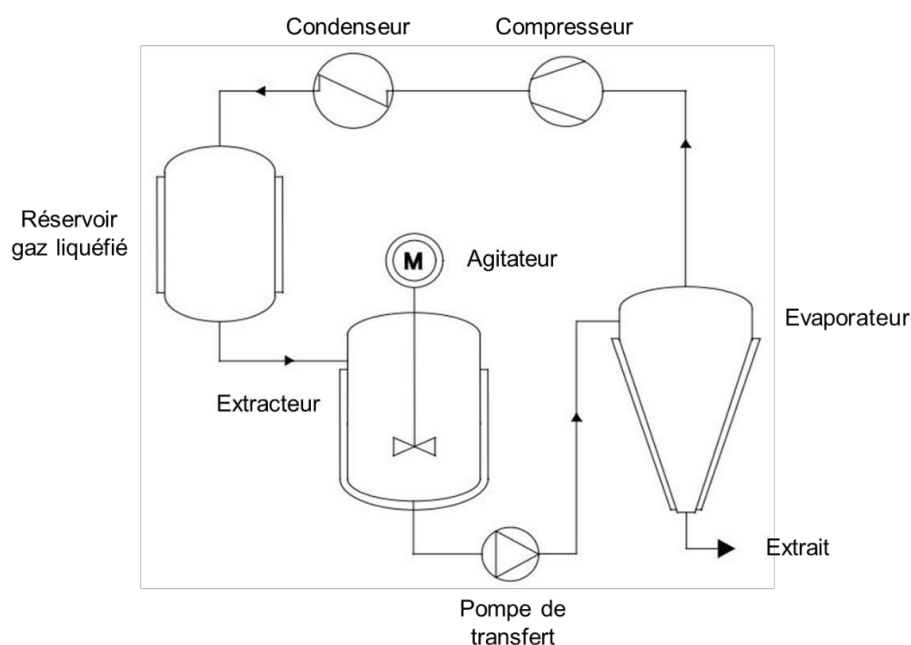


Figure I. 4 - Schéma de principe simplifié de l'extraction solide-liquide selon un procédé avec compresseur

Afin d'avoir une meilleure compréhension du système d'un point de vue thermodynamique, il est souvent utile de faire figurer le cheminement du solvant sur son diagramme enthalpique (Figure I. 5), le diagramme dit des frigoristes [10]. La pression est en ordonnée selon une échelle logarithmique et l'enthalpie est en abscisse. L'état de référence pour l'enthalpie est le gaz pur à 25°C et sous pression nulle. Les isothermes sont représentées par lignes noires.

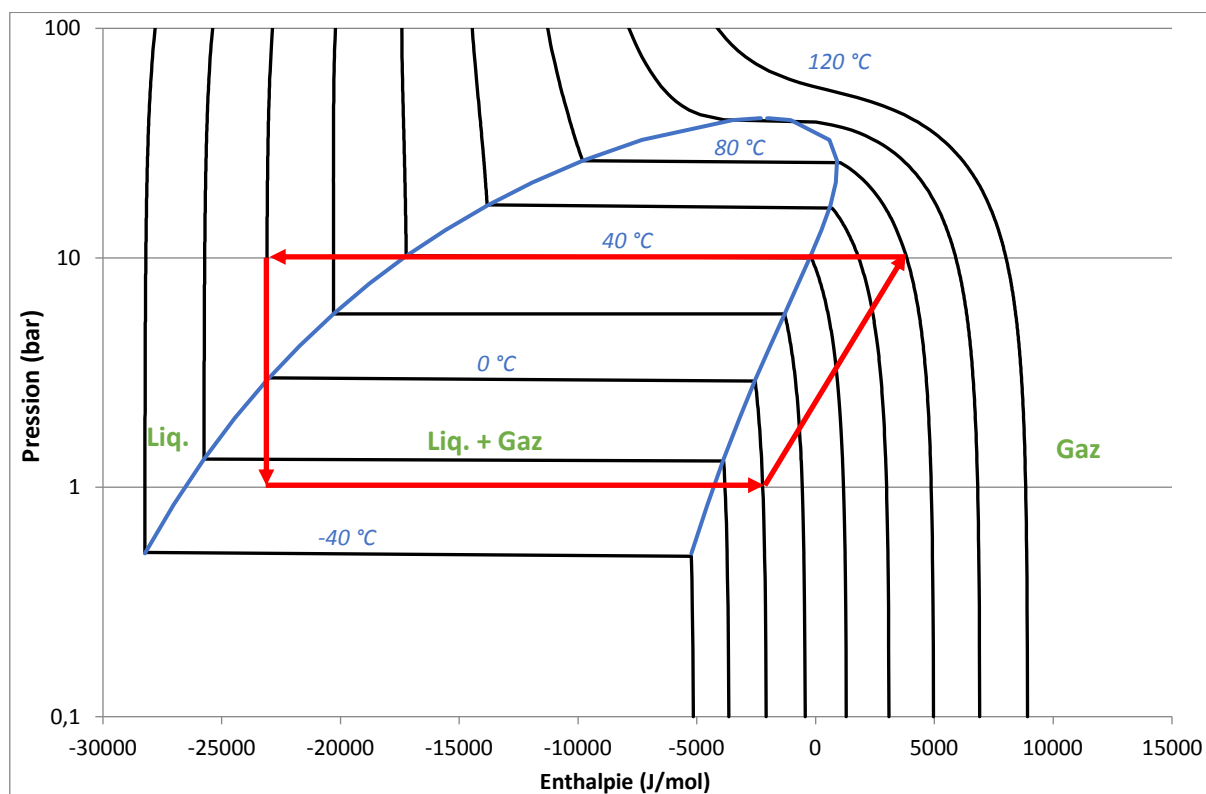


Figure I. 5 - Cheminement du solvant tétrafluoroéthane (R134a) lors d'un procédé d'extraction végétale selon un procédé avec un compresseur

### **Exemple : Système d'extraction en boucle fermée utilisant le tétrafluoroéthane (R134a)**

Dans un dispositif d'extraction avec compresseur, le cheminement du solvant tel que présenté Figure I. 5 est le suivant:

- la matière végétale est mise en contact dans le solvant liquide à 40°C sous une pression de 10 bar ;
- puis la solution est détendue de façon adiabatique jusqu'à la pression atmosphérique, le solvant s'évaporant partiellement ;
- puis le mélange est maintenu en température pour finir d'évaporer le solvant et d'isoler l'extrait ;
- puis, le solvant gazeux est comprimé puis condensé sous pression par échange avec une source froide ;

- enfin, le solvant condensé est soit réinjecté dans l'extracteur (mode semi-continu), soit stocké en vue d'une utilisation ultérieure (mode batch).

Ces systèmes sont très proches du fonctionnement des unités de réfrigération, ils ont donc profité de l'expertise technologique déjà existante pour pouvoir être rapidement mis en œuvre industriellement. Une des premières unités d'extraction connues fonctionnant selon ce mode a été mise en service en 1948 par la société Robertet pour l'extraction de composés odorants à partir de fleurs fragiles. Le constructeur TecnoLab a ensuite repris ce principe pour leur première génération d'unités d'extraction (Figure I. 6), puis plus récemment, une dizaine d'installations dédiées à l'extraction d'huiles végétales ont été mises en service en Chine, pour des capacités de production allant de 2 à 100 tonnes / jours.



Figure I. 6 - Unité industrielle d'extraction de 2x500 litres fonctionnant selon un procédé avec compresseur (crédits : TecnoLab s.r.l.)

Les systèmes avec compresseur sont particulièrement adaptés à un régime semi-continu, dans lequel le solvant est constamment renouvelé de façon à extraire au maximum la matière première. La présence d'un compresseur permet de contrôler précisément le débit de recirculation du solvant, ce qui facilite la régulation du système et génère une force motrice permettant de compenser les pertes de charges du circuit (lit de matière première, filtres, coudes, vannes, détendeurs etc...). Pour autant, le compresseur constitue à la fois l'avantage et l'inconvénient de ces systèmes. En effet, les compresseurs sont des machines encombrantes et énergivores qui engendrent des frais d'investissement et de maintenance importants, ce qui limite de fait la taille des installations. Ce constat est encore plus vrai pour des compresseurs antidéflagrants, en cas d'utilisation de solvants inflammables. Pour ces différentes raisons, les unités d'extraction avec compresseur existantes sont souvent limitées à des capacités inférieures à 1 m<sup>3</sup> et mettant en œuvre des solvants non-inflammables (R134a ou HFOs).

### I.5.2. Extraction par gaz liquéfiés vs extraction par fluide supercritique

Il est important à ce stade, à titre de comparaison, de rapprocher le procédé d'extraction sous pression en phase liquide décrit ci-dessus avec l'extraction en milieu supercritique. Il est en effet facile de confondre ces 2 procédés étant donné qu'ils mettent tous les deux un gaz comme solvant et qu'ils présentent des avantages similaires, en particulier lors de la phase de séparation solvant/extrait. Les procédés d'extraction par fluide supercritique ont été longuement étudiés et sont décrits par les articles du Professeur Michel Perrut [4] et du Dr Karima Benaïssi [11]. L'extraction supercritique met également en œuvre un cycle thermodynamique avec compression et détente visualisé ci-après (Figure I. 7) sur l'exemple du diagramme enthalpique du CO<sub>2</sub>.

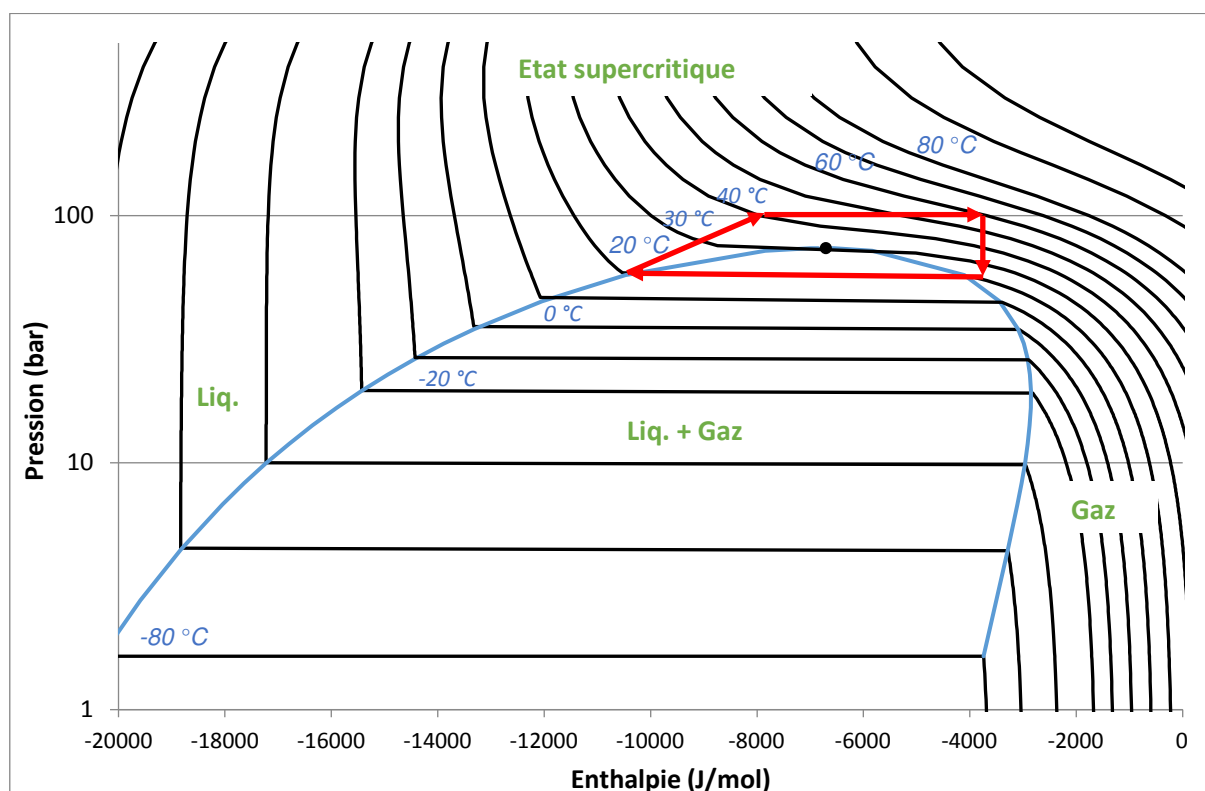


Figure I. 7 - Cheminement du CO<sub>2</sub> lors d'un procédé d'extraction par fluide supercritique

#### **Exemple : extraction solide liquide à l'aide de CO<sub>2</sub> supercritique**

Dans un dispositif d'extraction utilisant le CO<sub>2</sub> supercritique avec une séparation simple à un étage, le CO<sub>2</sub> suit le cheminement décrit Figure I. 7, correspondant aux étapes suivantes :

- le CO<sub>2</sub> liquide est comprimé à l'aide d'un compresseur jusqu'à 100 bar, de façon à dépasser la pression critique ( $P_c = 73$  bar), puis chauffé à 60 °C pour passer à l'état supercritique ( $T_c = 31$  °C) en entrant dans l'extracteur,
- le CO<sub>2</sub> supercritique est alors mise en contact avec la matière première,

- puis le solvant contenant l'extrait est détendu de façon adiabatique jusqu'à une pression de 50-60 bar et à une température de 20 °C, où le solvant est à l'état gazeux. L'extrait liquide ou solide est ainsi séparé du solvant
- puis, le solvant est condensé en totalité sur un point froid
- enfin, le solvant condensé est soit recomprimé et réinjecté dans l'extracteur (mode semi-continu), soit stocké en vue d'une utilisation ultérieure (mode batch).

En termes d'équipement, les avantages et inconvénients des unités d'extraction supercritique sont similaires à ceux des unités d'extraction par gaz liquéfiés utilisant un compresseur. Mais surtout la grande difficulté de construire des capacités dimensionnées pour les hautes pressions (jusqu'à 1000 bar) limite actuellement sa mise en œuvre à l'échelle industrielle.

### **I.5.3. Systèmes isobares**

A l'inverse des systèmes avec compresseurs, les systèmes « isobares » travaillent en maintenant à tout instant le solvant à un état d'équilibre liquide/gaz. Dans tout le circuit, le solvant liquide est en présence d'un ciel gazeux de même composition et la pression régnant dans l'enceinte est fonction de la température selon la loi de pression de vapeur du solvant.

Le passage de l'état liquide à l'état gazeux (étape d'évaporation du solvant) nécessite uniquement un apport d'énergie sous forme de chaleur, égale à l'enthalpie de vaporisation ( $\Delta H_{vap}$ ) du solvant - et inversement pour l'étape de condensation. Cette façon de procéder est plus économe en énergie, étant donné que l'apport d'énergie est limité aux changements d'état du gaz (évaporation puis condensation). Même si les systèmes « isobares » sont à l'origine des procédés batch, ils peuvent être adaptés pour fonctionner en régime semi-continu. La simplicité de ces systèmes (Figure I. 8) en fait leur principal atout, puisqu'il limite au minimum le besoin d'équipements mécaniques, coûteux, fragiles et encombrants qui limitaient les installations avec compresseur en termes de capacité et de solvants compatibles.

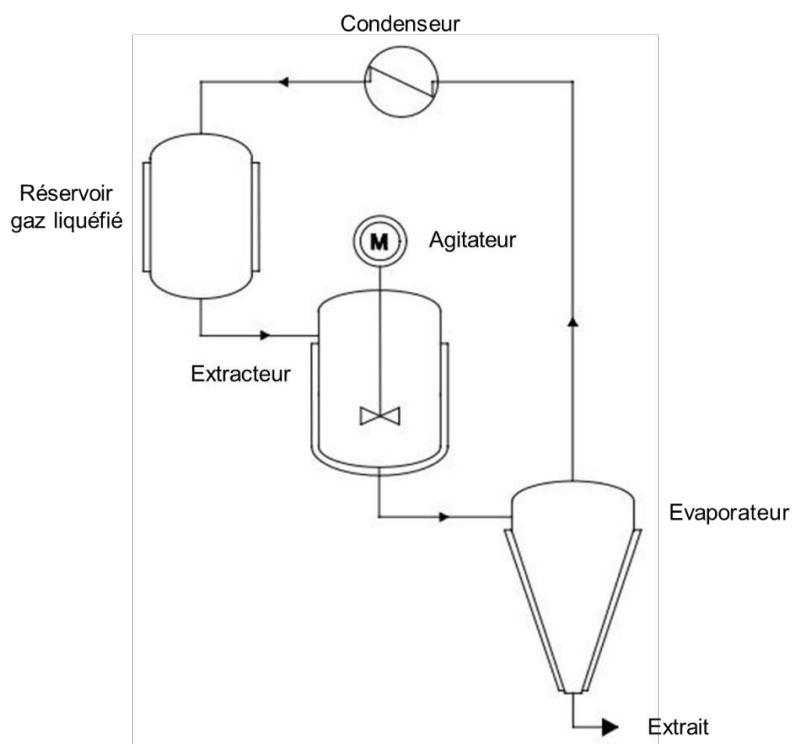


Figure I. 8 - Schéma de principe simplifié de l'extraction solide-liquide selon un procédé non-isobare

Afin de visualiser la différence d'un point de vue thermodynamique avec les systèmes avec compresseur, le cheminement du solvant dans l'unité d'extraction est décrit sur le diagramme enthalpique du R134a, Figure I. 9.

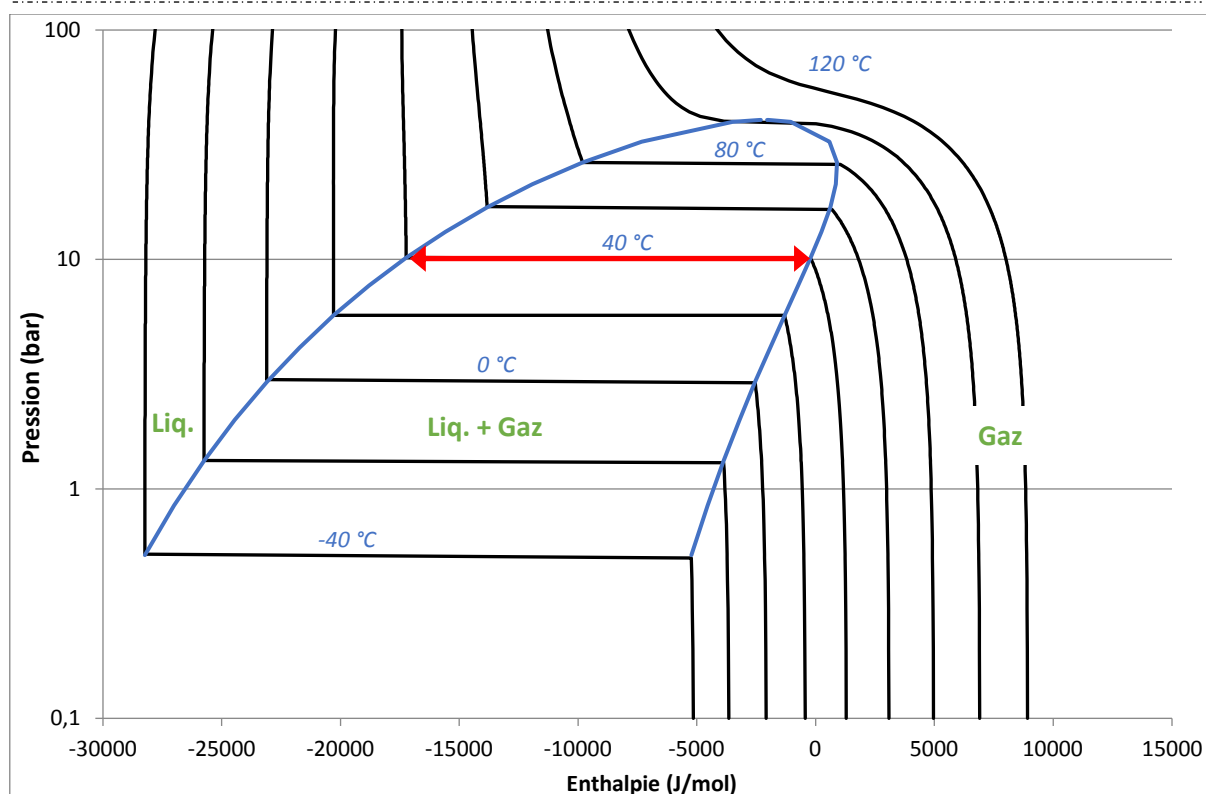


Figure I. 9 - Cheminement du solvant tétrafluoroéthane (R134a) lors d'un procédé d'extraction végétale selon un procédé isobare

### **Exemple : extraction par R134a selon un procédé isobare**

Dans l'exemple de la Figure I. 9:

- la matière première est macérée dans le solvant liquide à 40°C sous 10 bar, en présence d'un ciel gazeux de solvant,
- puis, la solution obtenue est transférée dans un évaporateur. Par apport d'énergie, le solvant s'évapore à 40°C sous 10 bar. L'extrait isolé est collecté au fond du bouilleur,
- les vapeurs de solvant sont condensé à 40°C sous 10 bar
- le solvant liquide est recyclé soit immédiatement dans l'extracteur (mode semi-continu) soit pour le batch suivant (mode batch)

Grâce à leur simplicité, les systèmes « isobares » sont plus économes en énergie, compatibles avec les solvants inflammables, sans limite de capacité et moins couteux que les systèmes avec compresseurs. De plus, les récents développements entrepris par les constructeurs ont permis de fiabiliser leur fonctionnement, de sorte qu'ils remplacent petit à petit les systèmes avec compresseur à l'échelle industrielle. Les principaux constructeurs européens d'extracteurs aux gaz liquéfiés ont fait le choix de ce mode de fonctionnement pour leurs unités industrielles (Figure I. 10).





Figure I. 10 - Unité industrielle d'extraction de 500 litres fonctionnant selon un procédé isobare (crédits : Celsius s.a.r.l.)

#### I.5.4. Transfert de solvant cuve à cuve

Les gaz liquéfiés étant très souvent mis en œuvre à la limite liquide/vapeur, les opérations de transfert cuve à cuve nécessitent une réflexion particulière. Il existe principalement 3 méthodes (Figure I. 11), chacune ayant ses avantages et ses inconvénients :

- **Transfert gravitaire** : la cuve de départ est placée au-dessus de la cuve d'arrivée, en prenant soin de les relier par une conduite d'équilibrage des pressions. La gravité étant la seule force qui rentre en jeu, c'est la façon la plus simple et économique de procéder. Cependant elle implique une implantation verticale qui génère un encombrement important en hauteur.
- **Transfert par pompage** : le gaz liquéfié est mis en circulation à l'aide d'une pompe, généralement à membranes ou à engrenages. Il s'agit d'une solution facile à mettre en œuvre, qui permet de contrôler le transfert et d'avoir davantage de flexibilité pour l'implantation des cuves. Toutefois, le pompage d'un gaz liquéfié à l'équilibre évaporatoire présente un risque important de cavitation qui détériore les organes de la pompe et engendrent des coûts de maintenance importants.
- **Transfert par surpression** : ce mode de transfert met à profit la volatilité des gaz liquéfiés en créant temporairement une surpression (+ 1 bar) dans la cuve de départ en vaporisant une petite fraction du gaz liquéfié par un appoint local de chaleur (à l'aide d'un serpentin immergé ou d'un échangeur de chaleur placé en parallèle). Cette solution permet une implantation horizontale des cuves, mais elle nécessite de pouvoir réguler rapidement la température dans chaque cuve indépendamment.

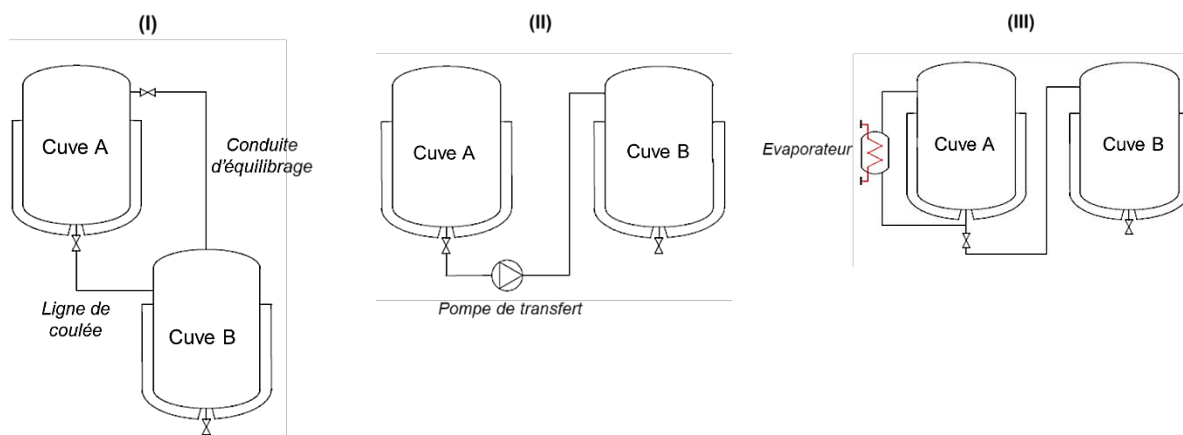


Figure I. 11 - Modes de transfert des gaz liquéfiés : (I) transfert gravitaire (II) transfert par pompage (III) transfert par surpression

### I.5.5. Etape de séchage final

Une fois les étapes d'extraction et d'évaporation terminées, on estime qu'entre 1 et 5% de la masse de solvant initialement introduit reste présent dans le circuit, soit sous forme de vapeurs sous pression dans les cuves et la tuyauterie, soit piégée dans la matière première et l'extrait. La désolvation complète de l'extrait et de la matière première doit faire l'objet d'une étape spécifique, commune aux systèmes avec compresseurs et aux systèmes isobares. Afin de recycler complètement le solvant et d'éliminer les traces dans le produit, les vapeurs sous pression sont progressivement détendues puis aspirées à l'aide d'une pompe à vide avant d'être condensées à pression atmosphérique, à l'aide d'un condenseur alimenté par une source de froid adaptée. A noter qu'il est souvent nécessaire de brasser mécaniquement la matière première extraite afin d'accélérer la désolvation. Au final, le séchage sous vide permet de faire descendre la teneur en solvant résiduel dans le produit fini à des seuils inférieurs à 1 ppm, voire 20 ppb ou à l'éliminer complètement dans certains cas.

## I.6. Applications

Du fait du récent regain d'intérêt pour l'extraction aux gaz liquéfiés, les applications industrielles restent encore actuellement confidentielles. Pour autant, depuis la fin des années 2000, plus d'une centaine d'études ont été menées et ont ainsi permis de produire une bibliographie plus abondante.



Figure I. 12 - Répartition des références en fonction des solvants utilisés (gauche) et des composés cibles (droite) entre 1950 et 2018

Depuis 1950, les publications parues sur l'utilisation des gaz liquéfiés comme solvant d'extraction décrivent des procédés mettant en œuvre majoritairement : des gaz de pétrole liquéfiés (propane, *n*-butane et GPL), proches chimiquement du *n*-hexane ; de l'éther diméthylique, miscible avec l'eau et pouvant extraire une large palette de composés ; du tétrafluoroéthane, non-inflammable et plus sélectif. Etant donné les caractéristiques de chaque solvant, les études se concentrent sur l'extraction de molécules lipophiles, en particulier l'extraction d'huiles, de composés bioactifs et de composés odorants (Figure I. 12).

Depuis 2016, l'installation de la plateforme d'éco-extraction de Valréas dans le département du Vaucluse permet l'accès aux industriels à des unités pilotes d'extraction par gaz liquéfiés, d'une capacité de 1 Litre et de 500 Litres pour des études de faisabilité et de montée en échelle (Figure I. 13).



Figure I. 13 - Pilotes d'extraction par gaz liquéfiés d'une capacité de 1 Litre et 500 Litres (Plateforme d'Eco-Extraction de Valréas, France)

### I.6.1. Extraction de composés odorants

Historiquement, l'extraction composés odorants a été l'un des premiers secteurs d'applications pour les gaz liquéfiés, en particulier pour les plantes dites « fragiles » (ex : jasmin, rose, muguet... [12]) dont les qualités olfactives sont rapidement dégradées par les traitements conventionnels (hydrodistillation, entrainement à la vapeur, voire extraction par solvant peu volatil...). De grands acteurs du monde de la parfumerie (Robertet, Mane...) ont tour à tour mis à profit la capacité des gaz liquéfiés à être évaporés à froid pour développer des gammes d'extraits d'une grande qualité, conservant un profil aromatique proche de celui de la plante d'origine.

Les gaz liquéfiés peuvent être mis en œuvre simplement dans une optique de substitution de solvants organiques toxiques (hexane, dichlorométhane, chloroforme...) mais ils offrent aussi une alternative plus économique aux procédés d'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique.

Dans le cas des composés odorants, les gaz fluorés (R134a, HFO-1234ze...) sont les solvants à privilégier car ils permettent d'obtenir un extrait aromatique pauvre en cires, souvent considérées comme indésirables, à l'inverse des « concrètes » obtenues habituellement. De plus, la majorité des gaz fluorés ne sont pas inflammables, ce qui limite les coûts d'investissement et les risques pour les opérateurs. Pour autant, les autres gaz liquéfiés peuvent être utilisés avantageusement pour l'extraction d'arômes, en particulier le DME utilisable directement sur des plantes fraîches permettant ainsi des étapes de séchage et de broyage, énergivores et susceptibles d'altérer leur qualité olfactive. Le Tableau I. 4 regroupe des exemples de conditions opératoires optimales pour l'extraction de différentes plantes aromatiques [13–17].

## **I.6.2. Extraction d'huiles**

### *I.6.2.1. A partir de graines*

Étant donné la nature lipophile de la grande majorité des gaz liquéfiés, le marché de l'extraction d'huile est probablement celui qui a donné lieu à plus de travaux de recherches depuis 2010, en particulier dans une optique de substitution de l'hexane, encore très utilisé aujourd'hui malgré sa toxicité [7]. Parmi les gaz liquéfiés, le propane et le *n*-butane sont les candidats les plus évidents étant donné leur structure chimique très proche. Leur innocuité leur a permis d'être classés parmi la liste des solvants d'extraction alimentaires autorisés par l'Union Européenne (Directive 2009/32/CE).

D'un point de vue qualitatif, à l'instar des procédés au CO<sub>2</sub> supercritique, les gaz liquéfiés offrent aussi la possibilité d'extraire dans des conditions douces les composés minoritaires présents dans l'huile (stéroïdes, tocophérols, flavonoïdes...) sans risque de dégradation thermique, donnant ainsi une huile de qualité supérieure à celles issues des procédés d'extraction par solvants utilisés actuellement. En particulier, une augmentation significative de l'activité antioxydante a été notamment observée dans les huiles extraites avec du propane ou du *n*-butane, avec des rendements équivalents par rapport aux procédés à l'hexane, ou même aux procédés au CO<sub>2</sub> supercritique [18–21]. Le DME quant à lui permet grâce à sa plus grande polarité ( $\log P = 0,1$ ), d'extraire un spectre plus large de composés lipidiques, à la fois les triglycérides, les composés minoritaires mais aussi les phospholipides. Le Tableau I. 4 regroupe quelques exemples d'extraction menées depuis 2010 sur des graines oléagineuses.

### 1.6.2.2. A partir de micro-organismes

Ces dernières années, les microorganismes ont fait l'objet de plusieurs projets collaboratifs de recherche industrie-académie dans le but de trouver de nouvelles sources de biocarburants comme alternative aux cultures céréalières. Les micro-algues, par exemple, ont la capacité de produire et d'accumuler une grande teneur d'huile. Ils sont aussi faciles à produire, de telle sorte qu'ils ne rentrent pas en compétition avec des cultures alimentaires. Afin d'extraire les lipides à partir des micro-algues en évitant l'emploi de solvants d'extraction pétroliers, les procédés industriels d'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique ont été largement utilisés donnant de bons résultats à la fois en termes de rendement et de sélectivité [11]. Néanmoins le CO<sub>2</sub> supercritique n'étant pas miscible avec l'eau, ces procédés nécessitent une étape préalable de séchage de la biomasse, connue pour être consommatrice en temps et en énergie.

Récemment, des études menées ont montré que le DME (partiellement miscible avec l'eau) pouvait permettre une extraction aussi efficace des composés d'intérêt directement à partir de biomasse humide [22]. L'eau de constitution étant co-extraite en même temps que les composés lipidiques, il ne reste alors plus dans l'extracteur que la biomasse sèche, dégraissée et sans traces de solvant, qui peut être directement valorisée, en tant que source de protéines [23–25].

### 1.6.3. Extraction de molécules bioactives

Quelques exemples d'utilisation de gaz liquéfiés pour la production de molécules bioactives sont listés dans le Tableau I. 4 [8, 26–29]. L'une des applications la plus connue est sans conteste l'extraction de l'artémisinine, un actif antipaludéen, à partir d'armoise annuelle (*Artemisia Annua*). Les travaux de recherche menés à l'Université de Cambridge par Lapkin *et al.* [28, 29] ont permis de mettre au point un procédé industriel mettant en œuvre le tétrafluoroéthane (R134a) comme solvant. Le gain en termes de consommation de solvant, d'énergie et de temps ont permis de diviser par deux le prix de revient industriel. Ce procédé est actuellement mis en œuvre dans une usine à Madagascar et permet la production d'environ 5 tonnes d'artémisinine par an. D'autres unités d'extractions fonctionnant au R134a sont actuellement en fonctionnement au Rwanda, pour l'extraction d'un insecticide naturel à partir de pyrèthre (Figure I. 14).

Tableau I. 4 - Exemples d'extractions de produits naturels

Nom commun	Composés d'intérêt	Solvant	Température (°C)	Pression (bar)	Réf.
Muguet		<i>n</i> -butane	30	2 – 3	[13]
Orange		GPL	35	4,5	[14]
Cannelier	Composés odorants	R134a	20	5	[15]
Sarriette		R134a	20	6	[16]
Citron		DME	35	8	[17]
Nitraria		<i>n</i> -butane	40	6	[18]
Andiroba	Huile + antioxydants	<i>n</i> -butane	25	7	[19]
Tournesol		<i>n</i> -butane	40	4	[20]
Son de riz		<i>n</i> -propane	25	7	[21]
<i>Euglena gracilis</i>		DME	20	7	[22]
<i>Botryococcus braunii</i>	Huile	DME	37	7	[23]
<i>Aurantiochytrium limacinum</i>		DME	37	7	[24]
<i>Arthrospira platensis</i>	Huile + pigments	DME	20	5	[25]
Wakame	Fucoxanthine	DME	25	6	[26]
Thé vert	Caféine	DME	20	5	[30]
Mangoustanier	Xanthones	DME	35	8	[27]
Armoise annuelle	Artemisinine	R134a	15 – 40	4 – 12	[28, 29]
		HFO-1234yf	22	5	[8]



Figure I. 14 - Unité d'extraction de 2000 Litres d'extraction de pyrèthre (crédit : TecnoLab S.r.l.)

## 1.7. Etude économique

Le manque de données économiques disponibles dans la littérature et le nombre de facteurs à prendre en compte rendent difficile une étude exhaustive du coût réel d'un procédé d'extraction par gaz liquéfié par rapport aux technologies existantes. Néanmoins, certains indicateurs comme le prix des solvants et le coût d'investissement pour une unité d'extraction peuvent donner une première base de comparaison avec les procédés d'extraction usuels. Le prix des gaz liquéfiés varie de 1-2 k€/t pour le propane, butane et l'éther diméthylique à 17 k€/t pour le HFO-1234ze et peut monter à 200 k€/t pour le HFO-1234yf (prix hors taxes, INVENTEC Performance Chemicals, 2016) contre environ 1 k€/t pour l'hexane. Le cout d'une unité d'extraction de 0,5 m<sup>3</sup> peut lui varier de 300 k€ à 500 k€ (d'après [31] et Celsius s.a.r.l.) selon les constructeurs et les spécifications de l'acheteur. A titre de comparaison, les unités d'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique ont un prix estimé à plus de 1 M€ pour des capacités équivalentes.

Le procédé d'extraction de l'artémisinine est actuellement le seul à avoir donné lieu à la publication d'une étude économique qui compare un procédé d'extraction par gaz liquéfié aux procédés conventionnels. L'étude menée par Lapkin et coll. [31] en 2006 a démontré qu'un procédé d'extraction au tétrafluoroéthane pouvait être compétitif vis-à-vis d'un procédé utilisant de l'hexane, grâce à un gain de 30% en termes de consommation énergétique, une diminution de la durée d'extraction, une augmentation du rendement d'extraction et de la concentration en actif dans l'extrait brut. L'étude met également en avant l'apport du tétrafluoroéthane en ce qui concerne la sécurité des

consommateurs et des opérateurs. Des études ont été depuis entreprises pour remplacer le tétrafluoroéthane, gaz à effet de serre, par le tétrafluoropropène HFO-1234yf [8].

## 1.8. Sécurité et réglementations

### 1.8.1. Sécurité des produits et des opérateurs

Le procédé d'extraction aux gaz liquéfiés est un procédé simple qui consiste en une succession d'opérations unitaires (macération, évaporation, condensation) réalisées sous pression. Pour autant, l'utilisation de ces conditions opératoires particulières génèrent des risques spécifiques pour les opérateurs, les produits et les équipements. L'identification des dangers constitue la première étape de nombreuses méthodes d'évaluation des risques, aussi bien pour le consommateur (HACCP : Hazard Analysis and Critical Control Point) que pour les opérateurs (HAZOP : HAZard analysis and OPerability). L'objectif de cette partie n'est pas de fournir une analyse exhaustive des risques applicables à tous les procédés d'extraction par gaz liquéfiés – elle doit être menée indépendamment dans chaque entreprise et pour chaque produit - mais de donner des pistes de réflexion destinées aux industriels qui mettront en œuvre ces analyses. De la même manière, la réflexion sera limitée à l'étape d'extraction à proprement parler, étant donné que l'extraction aux gaz liquéfiés est une macération sous pression et ne génère en principe pas de grandes modifications dans la chaîne de production.

#### 1.8.1.1. Analyses des dangers pour les produits

L'utilisation d'un nouveau solvant d'extraction et d'un nouveau procédé d'extraction nécessitent d'étudier attentivement les impacts potentiels sur la qualité et la sécurité du produit. Dans l'industrie agro-alimentaire, cette évaluation est menée grâce à la méthode HACCP (« Hazard Analysis Critical Control Point »), qui peut être définie comme « une méthode et une approche structurée par sept principes permettant de se prémunir de tous problèmes d'insécurité des aliments par la mise en place d'activités opérationnelles, moyens et solutions techniques préétablies et d'en apporter la preuve » [32]. L'analyse des dangers constitue le premier des sept principes qui consiste à lister les dangers significatifs des produits, selon plusieurs catégories : dangers biologiques, dangers chimiques, dangers physiques et éventuellement dangers allergènes.

- **Dangers physiques** : les risques physiques sont principalement liés à l'introduction de corps étrangers dans le produit, tels que des particules polymères ou métalliques provenant de l'équipement de production ou de l'environnement extérieur (poussières, débris de verre, de métaux, d'insectes, objets provenant du personnel...). Dans le cas des systèmes d'extraction par gaz liquéfiés, les extracteurs sous pression sont étanches par conception, par conséquent l'introduction de corps étrangers peut survenir lors des étapes de manutention, lors du



chargement et déchargement de l'extrait et de la matière première, ou bien de façon continue par libération de particules provenant des parois métalliques des cuves, des pâles d'agitateurs, des organes des pompes et compresseurs, des vannes ou bien de joints d'étanchéité.

- **Dangers biologiques** : ils regroupent les agents biologiques et les composés chimiques de nature biologiques (toxines). Le procédé d'extraction par gaz liquéfiés n'est pas une source de contamination biologique, néanmoins les conditions de températures et de pression employées (20 – 40 °C et 1 – 10 bar) sont insuffisantes pour inactiver des agents pathogènes, qu'ils soient présents dans la matière première, dans l'extrait final ou dans l'équipement lui-même.
- **Dangers chimiques** : ce sont des composés chimiques indésirables susceptibles d'être toxiques. Il s'agit généralement de contaminants issues de l'équipement lui-même (métaux, lubrifiants, fluide caloporteur...) ou de produits de dégradation formés lors de la mise en contact entre la matière à extraire et le solvant ou d'impuretés présentes dans le solvant. Il est également important de s'assurer de la pureté du gaz liquéfié utilisé, en particulier dans le cas du *n*-butane qui peut devenir impropre à l'utilisation en tant que solvant s'il contient plus de 0,1% de butadiène. De plus, bien que très faibles, les traces de solvant résiduel dans les produits finaux doivent également être contrôlées pour s'assurer du respect des réglementations en vigueur.

#### *1.8.1.2. Analyse des dangers pour les opérateurs*

Le principal inconvénient de l'utilisation des gaz liquéfiés comme solvant d'extraction est lié aux dangers qu'ils représentent et les risques potentiels qu'ils génèrent pour les installations et les opérateurs. L'évaluation de ses risques potentiels dus à des déviations des paramètres opératoires normaux constitue l'objectif de la méthode HAZOP (« HAZard and OPerability studies ») [33], qui amènera ensuite à définir des actions recommandées pour les éliminer ou au moins atténuer les risques. Tout d'abord, il convient de rappeler que les gaz liquéfiés sont stockés pour la grande majorité à température ambiante et sous leur propre pression de vapeur. La pression de vapeur augmentant avec la température, une surchauffe excessive peut rapidement conduire à une surpression dans la cuve et provoquer l'ouverture de la soupape de sûreté voire, dans le pire des cas, une rupture de l'enveloppe.

En cas de fuite, causée par une corrosion des tuyauteries, un impact ou erreur humaine, une grande quantité de gaz est susceptible d'être libérée dans l'atmosphère de travail. À titre d'exemple, 1 m<sup>3</sup> de 1,1,1,3-tétrafluoropropène (HFO-1234ze) liquéfié à 25 °C peut générer 200 m<sup>3</sup> de gaz. L'accumulation importante de gaz dans un espace confiné peut conduire selon sa nature et la quantité libérée, à des

risques d'asphyxie, voire d'intoxication (pour les gaz toxiques) ou d'explosion (pour les gaz inflammables). Pour cette raison, il convient de mettre en œuvre des mesures afin de limiter les quantités utilisées et de travailler dans des locaux correctement ventilés et équipés des moyens de détection, avertissement et extinction adéquats. Dans le cas des gaz inflammables, qui concerne une majorité des gaz liquéfiés utilisés en tant que solvant d'extraction (propane, *n*-butane et DME), le Code du travail impose à l'employeur de prendre les mesures nécessaires pour : prévenir ou limiter l'apparition d'atmosphères explosives, éviter leur inflammation et atténuer les effets des explosions [34].

### **1.8.2. Règlementation**

L'utilisation des gaz liquéfiés en tant que solvant d'extraction impose le respect d'un certain nombre de directives internationales. Par leur nature, les gaz sont de fait soumis au Protocole de Kyoto, visant à réduire l'émission des gaz à effet de serre et au Protocole de Montréal, visant à réduire et à terme d'éliminer les substances appauvrissant la couche d'ozone. Ces deux protocoles ont en particulier conduit à l'interdiction des CFC (chlorofluorocarbures) et plus récemment à une diminution progressive de la production des HFC (hydrofluorocarbures), en particulier le 1,1,1,2 tétrafluoroéthane (R134a) qui fut l'un des premiers gaz liquéfiés utilisés en tant que solvant d'extraction. À l'inverse, le propane, *n*-butane, l'éther diméthyle (DME), le 2,3,3,3-tétrafluoropropène (HFO-1234yf) et le 1,3,3,3-tétrafluoropropène (HFO-1234ze) ne sont pas destructeurs de la couche d'ozone et ne participent pas ou peu à l'effet de serre, par conséquent ils ne sont pas impactés par ces protocoles et restent utilisables à l'échelle industrielle.

Parallèlement, leur utilisation en tant que solvant d'extraction oblige les industriels à respecter les différentes réglementations spécifiques à chaque type de produit, notamment à usage alimentaire ou cosmétique. Pour l'industrie agro-alimentaire, les directives européennes 2009/32/CE, 2010/59/UE et 2016/1855/UE concernant les solvants d'extractions impose une liste de solvants utilisables en précisant leurs conditions d'utilisations. À l'heure actuelle, le propane et le *n*-butane font partie de la liste « Annexe I – Partie I » qui permet une utilisation sans restriction spécifique, dans la limite des bonnes pratiques de fabrication. Le DME a récemment été ajouté à la liste « Annexe I – Partie II » en tant que solvant d'extraction pour dégraisser des matières premières à base de protéines animales, en spécifiant des teneurs résiduelles limitées à 0,009 mg/kg dans les produits à base de protéines animales et à 3 mg/kg dans le collagène et dérivés. Enfin, le R134a est mentionné dans la liste « Annexe I – Partie III » en tant que solvant d'extraction utilisable pour la préparation d'extraits aromatisants à partir de produits aromatiques naturels, avec une teneur maximale de 0,02 mg/kg de denrée

alimentaire. Les HFO-1234yf et HFO-1234ze ne sont à l'heure actuelle pas admis en tant que solvants d'extraction dans l'agroalimentaire.

Dans le cas de l'industrie cosmétique, le règlement européen N°1233/2009 prévoit à l'inverse une liste de composés à bannir dans les produits à usage cosmétique dans laquelle on ne retrouve aucun des gaz liquéfiés mentionnés dans cet article, à l'exception du *n*-butane lorsqu'il contient plus de 0,1% de butadiène.

## 1.9. Empreinte écologique et économique

Dans le but d'étudier l'impact environnemental d'un procédé d'extraction par gaz liquéfié, l'empreinte écologique a été déterminée en se basant sur les 6 principes de l'éco-extraction définis par Chemat *et al.* [35]:

- Principe 1 : Favoriser l'innovation par la sélection variétale et l'utilisation de ressources végétales renouvelables.
- Principe 2 : Privilégier les solvants alternatifs et principalement ceux issus des agro-ressources.
- Principe 3 : Réduire la consommation énergétique par l'assistance des technologies innovantes et favoriser la récupération d'énergie.
- Principe 4 : Favoriser la création de coproduits au lieu de déchets pour intégrer la voie de la bio- ou agro-raffinerie.
- Principe 5 : Réduire les opérations unitaires grâce à l'innovation technologique et favoriser les procédés sûrs, robustes et contrôlés.
- Principe 6 : Privilégier un produit non dénaturé, biodégradable, sans contaminants et surtout porteur de valeurs.

En attribuant une variable quantifiable à chacun des 6 principes, il est possible de créer une représentation graphique de l'empreinte écologique d'un procédé d'extraction par rapport à un procédé référence (Figure I. 15).

### **Exemple : extraction d'un extrait odorant**

Un procédé d'extraction de composés aromatiques à partir de fleurs de lavande a été choisi comme exemple afin d'illustrer le potentiel des gaz liquéfiés par rapport à un solvant usuel de référence : le *n*-hexane. En termes de performances du procédé, le DME est le solvant qui permet, à conditions opératoires égales (température, ratio lavande/solvant, nombre de renouvellement du solvant), l'extraction la plus rapide et avec le meilleur rendement, suivi par le *n*-butane et le *n*-hexane puis le 1,3,3,3-tétrafluoropropène (HFO-1234ze), qui possède un pouvoir solvant moindre. Le réel avantage des gaz liquéfiés par rapport aux solvants usuels apparaît une fois l'étape d'extraction est terminée,

.....

lors de l'étape de séparation solvant/extrait. En effet, la plupart des procédés d'extraction actuellement utilisés essaient de valoriser la matière première épuisée en tant que coproduit. Cependant, la matière extraite par le *n*-hexane ne peut pas être réutilisée telle qu'elle et doit être traitée dans le but d'éliminer les traces de solvant. Par conséquent, dans ce cas de figure l'étape d'extraction génère une grande masse de déchets. À l'inverse, les gaz liquéfiés ne laissent pas ou très peu de traces dans la matière extraite, elle peut être réutilisée telle qu'elle. Par conséquent, le procédé d'extraction par gaz liquéfié ne génère pas de déchets, uniquement des coproduits réutilisables. De plus, les gaz liquéfiés permettent un recyclage complet (>99,99%) [36] et rapide du solvant en une seule étape alors que les procédés utilisant le *n*-hexane doivent rajouter une ou plusieurs étape(s) de stripping pour récupérer le solvant piégé dans la matière végétale (jusqu'à 30% de la masse totale). Concernant la consommation énergétique, l'utilisation de gaz liquéfiés permet d'économiser une quantité significative d'énergie grâce à une faible enthalpie d'évaporation et une température d'évaporation modérée, en particulier pour le HFO-1234ze qui permet une économie de plus de 60% par rapport au *n*-hexane [37].

Enfin, la qualité de l'extrait est probablement le critère le plus important de l'étape d'extraction. De par leur plus grande volatilité, les gaz liquéfiés s'évaporent encore plus facilement que les solvants organiques classiques, conduisant à des extraits d'une plus grande qualité et réduisant le nombre d'étapes de purification. La littérature mentionne des niveaux de solvant résiduel souvent nulle ou bien inférieur à 1 ppm, voire à 20 ppb, soit près de 1000 fois moins qu'avec l'hexane (avant purification) [36].

De par tous ces aspects, l'utilisation des gaz liquéfiés comme solvants d'extraction permet de diminuer l'impact environnemental tout en obtenant un extrait de meilleure qualité, sans résidus de solvant toxique.

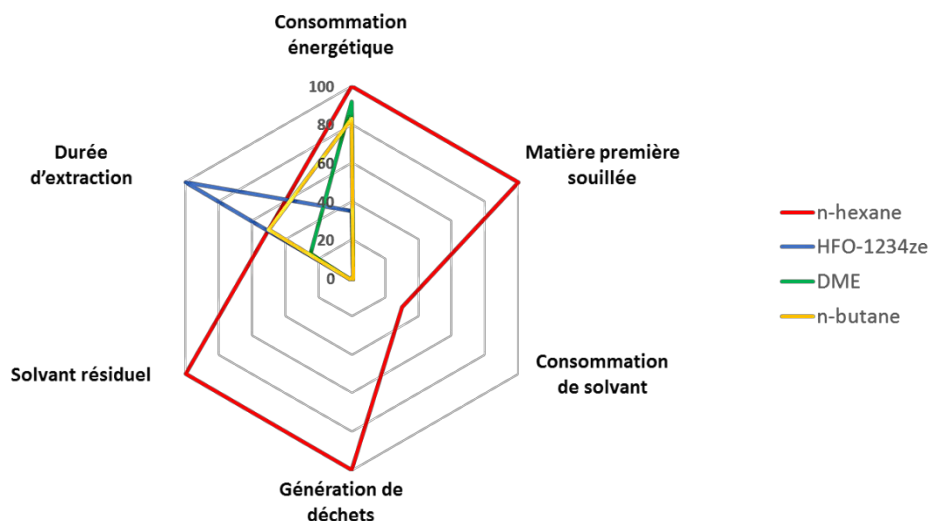


Figure 1.15 - Empreintes écologiques de procédés d'extraction d'arômes par macération à l'aide de différents solvants

## 1.10. Conclusion et perspectives

Les contextes économique, environnemental et législatif favorisent l'émergence et le développement de solvants alternatifs tels que les gaz liquéfiés, performants en termes d'impact environnemental, de réduction de la consommation énergétique et sur la santé des opérateurs et des consommateurs, pour la substitution des solvants conventionnels d'origine pétrolière comme l'hexane ou le dichlorométhane. Les gaz liquéfiés peuvent être envisagés comme une solution aux différentes problématiques environnementales liées à l'utilisation de solvants pétrochimiques et à la mise en œuvre de procédés moins énergivores.

Il faut souligner que la première utilisation des gaz liquéfiés pour l'extraction a été réalisée en France par la société Robertet en 1940, en utilisant le *n*-butane pour produire les « butaflors » à partir de fleurs fraîches. Ces dernières années, plusieurs constructeurs ont breveté et commercialisé des procédés d'extraction utilisant les gaz liquéfiés comme les sociétés Celsius SARL [38], Comerg LLC [39] ou Ineos Fluor Ltd. [40], tandis que plusieurs sociétés dans le domaine de l'extraction ont breveté et/ou commercialisé des extraits innovants produits à l'aide de gaz liquéfiés [41, 42].

Dans une démarche d'éco-extraction, l'utilisation des gaz liquéfiés comme solvants dans la mise en œuvre de procédés plus durables doit être réalisée selon un certain nombre de bonnes pratiques :

- Évaluer les possibilités d'utiliser les gaz liquéfiés pour produire des extraits ne contenant plus de solvant, comme c'est déjà le cas pour le *n*-butane ;
- Avoir recours à un gaz liquéfié d'origine naturelle renouvelable ou provenant des agro-ressources (avec connaissance, évaluation et maîtrise des risques associés), comme le cas du

DME pouvant être produit à partir du méthane produit par méthanisation des déchets agro et agri industriels et domestiques ;

- Choisir le gaz liquéfié qui permet d'intégrer la sécurité de l'opérateur et du consommateur : non CMR (Cancérigène, Mutagène, Reprotoxique), sans ou avec une faible toxicité, sans effet allergène et ne faisant pas partie de la famille des perturbateurs endocriniens ;
- Utiliser un gaz liquéfié qui peut être recyclé intégralement et dont la mise en œuvre engendre un coût énergétique limité.

## I.11. Références bibliographiques

1. C. G. Association (1999) Compressed gases today. In: Handbook of Compressed Gases, 4th edition. Springer Science & Business Media, pp 1–15
2. Heinrich-Schramm A, Price WE, Lüdemann H-D (2014) Self-Diffusion in Compressed Dimethylether: The Influence of Dipole-Dipole Interaction and Hydrogen Bonding Upon Translational Diffusivity in Simple Fluids. *Zeitschrift für Naturforschung A* 50:145–148
3. Swift GW, Lohrenz J, Kurata F (1960) Liquid viscosities above the normal boiling point for methane, ethane, propane, and n-butane. *AIChE Journal* 6:415–419
4. Perrut M (1999) Extraction par fluide supercritique [j2770]. *Techniques de l'ingénieur*
5. Holldorff H, Knapp H (1988) Binary vapor-liquid-liquid equilibrium of dimethyl ether - water and mutual solubilities of methyl chloride and water: experimental results and data reduction. *Fluid Phase Equilibria* 44:195–209
6. Filly A, Fabiano-Tixier AS, Fernandez X, Chemat F (2015) Alternative solvents for extraction of food aromas. Experimental and COSMO-RS study. *LWT - Food Science and Technology* 61:33–40
7. Sicaire A-G, Vian M, Fine F, Carre P, Tostain S, Chemat F (2015) Experimental approach versus COSMO-RS assisted solvent screening for predicting the solubility of rapeseed oil. *OCL* 22:1–7
8. Suberu J, Yamin P, Cornell R, Sam A, Lapkin A (2016) Feasibility of using 2,3,3,3-tetrafluoropropene (R1234yf) as a solvent for solid-liquid extraction of biopharmaceuticals. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 4:2559–2568
9. Klamt A (2003) Prediction of the mutual solubilities of hydrocarbons and water with COSMO-RS. *Fluid Phase Equilibria* 206:223–235
10. Gicquel R (2015) Diagrammes thermodynamiques Fluides purs, azéotropes et gaz idéaux [be8041]. *Techniques de l'ingénieur*
11. Benaissi K (2013) Le CO2 supercritique appliqué à l'extraction végétale [chv4015]. *Techniques de l'ingénieur*
12. Meunier E-P (1950) L'extraction par le butane dans l'industrie de la parfumerie. *Industrie de la parfumerie* 4:26–27
13. Poucher WA (1993) The production of natural perfumes. In: *Perfumes, Cosmetics and Soaps: Volume II The Production, Manufacture and Application of Perfumes*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 37–38

14. Bier MCJ, Medeiros ABP, de Oliveira JS, Côcco LC, da Luz Costa J, de Carvalho JC, Soccol CR (2016) Liquefied gas extraction: A new method for the recovery of terpenoids from agroindustrial and forest wastes. *The Journal of Supercritical Fluids* 110:97–102
15. Nenov N, Gochev V, Girova T, Stoilova I, Atanasova T, Stanchev V, Stoyanova A (2011) Low temperature extraction of essential oil bearing plants by liquefied gases. 6. Barks from cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Nees). *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 14:67–75
16. Nenov N, Gochev V, Stoilova I, Girova T, Atanasova T, Stoyanova A (2014) Low temperature extraction of bulgarian essential oil bearing plants from lamiaceae by liquefied gases 17. Savory (*Satureja hortensis* L.). *Wordl Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3:2128–2135
17. Hoshino R, Wahyudiono (2014) Simultaneous extraction of water and essential oils from citrus leaves and peels using liquefied dimethyl ether. *Journal of Nutrition & Food Sciences* 4:1–5
18. Liu Z, Mei L, Wang Q, Shao Y, Tao Y (2014) Optimization of subcritical fluid extraction of seed oil from *Nitraria tangutorum* using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology* 56:168–174
19. Novello Z, Scapinello J, Magro JD, Zin G, Luccio MD, Tres MV, Oliveira JV (2015) Extraction, chemical characterization and antioxidant activity of andiroba seeds oil obtained from pressurized n-butane. *Industrial Crops and Products* 76:697–701
20. Rapinel V, Rombaut N, Rakotomanomana N, Vallageas A, Cravotto G, Chemat F (2017) An original approach for lipophilic natural products extraction: Use of liquefied n-butane as alternative solvent to n-hexane. *LWT - Food Science and Technology* 85:524–533
21. Sparks D, Hernandez R, Zappi M, Blackwell D, Fleming T (2006) Extraction of rice bran oil using supercritical carbon dioxide and propane. *Journal of the American Oil Chemists Society* 83:885–891
22. Kanda H, Li P, Goto M, Makino H (2015) Energy-saving lipid extraction from wet *Euglena gracilis* by the low-boiling point solvent dimethyl ether. *Energies* 8:610–620
23. Kanda H, Li P, Yoshimura T, Okada S (2013) Wet extraction of hydrocarbons from *Botryococcus braunii* by dimethyl ether as compared with dry extraction by hexane. *Fuel* 105:535–539
24. Hoshino R, Murakami K, Machmudah S, Okita Y, Ohashi E, Kanda H, Goto M (2016) Economical wet extraction of lipid from *Labyrinthula aurantiochytrium limacinum* by using liquefied dimethyl ether. *Engineering journal* 20:146–153



25. Hoshino R, Ogawa M, Murakami K, Wahyudiono, Kanda H, Goto M (2017) Extraction of lipids from wet *Arthrospira platensis* by liquefied dimethyl ether. *Solvent Extraction Research and Development, Japan* 24:47–60
26. Kanda H, Kamo Y, Machmudah S, Wahyudiono EY, Goto M (2014) Extraction of fucoxanthin from raw macroalgae excluding drying and cell wall disruption by liquefied dimethyl ether. *Marine drugs* 12:2383–2396
27. Nerome H, Hoshino R, Ito S, Esaki R, Eto Y, Wakiyama S, Sharmin T, Goto M, Kanda H, Mishima K (2016) Functional ingredients extraction from *garcinia mangostana* pericarp by liquefied dimethyl ether. *Engineering journal* 20:8 . doi: 10.4186/ej.2016.20.4.155
28. Lapkin A, Adou E, Mlambo BN, Chemat S, Suberu J, Collis AEC, Clark A, Barker G (2014) Integrating medicinal plants extraction into a high-value biorefinery: an example of *Artemisia annua* L. *Comptes Rendus Chimie* 17:232–241
29. Lapkin AA, Peters M, Greiner L, Chemat S, Leonhard K, Liauw MA, Leitner W (2010) Screening of new solvents for artemisinin extraction process using ab initio methodology. *Green Chemistry* 12:241–251
30. Kanda H, Li P, Makino H (2013) Production of decaffeinated green tea leaves using liquefied dimethyl ether. *Food and Bioproducts Processing* 91:376–380
31. Lapkin AA, Plucinski PK, Cutler M (2006) Comparative assessment of technologies for extraction of artemisinin. *Journal of Natural Products* 69:1653–1664
32. Federighi M (2015) Méthode HACCP – Approche pragmatique [s16210]. *Techniques de l'ingénieur*
33. Royer M (2016) HAZOP : une méthode d'analyse des risques – Principe [se4031]. *Techniques de l'ingénieur*
34. Chaîneaux J (2012) Réglementation ATEX – Évaluation analytique des risques [se3250]. *Techniques de l'ingénieur*
35. Chemat F, Rombaut N, Fabiano-Tixier A-S, Pierson JT, Bily A (2015) Green extraction: from concepts to research, education, and economical opportunities. In: Chemat F, Strube J (eds) *Green Extraction of Natural Products*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, pp 1–36
36. Wilde PF (1996) *Fragrance extraction - US5512285 A*

37. Sicaire A-G, Vian M, Fine F, Joffre F, Carre P, Tostain S, Chemat F (2015) Alternative bio-based solvents for extraction of fat and oils: solubility prediction, global yield, extraction kinetics, chemical composition and cost of manufacturing. *International journal of molecular sciences* 16:8430–8453
38. Vallageas A (2012) Procédé et dispositif d'extraction de molécules - FR2970659 A1
39. Stantchev G (2017) Extraction apparatus and method thereof - US20170113161 A1
40. Low RE (2003) Apparatus and method for extracting biomass - US6589422 B2
41. Yano N, Fukinbara I, Takano M (1978) Extracting foods with a dimethyl ether-water mixture - US4079351
42. Heidlas J, Cully J, Wiesmuller J, Vollbrecht HR (1998) Process for the extraction of natural carotenoid dyes - US005789647A

### **Réglementation**

Directive 2014/34/UE du Parlement européen et du Conseil du 26 février 2014 relative à l'harmonisation des législations des États membres concernant les appareils et les systèmes de protection destinés à être utilisés en atmosphères explosibles. OJ L 96, 29.3.2014, p. 309–356.

Directive 2014/68/UE du Parlement européen et du Conseil du 15 mai 2014 relative à l'harmonisation des législations des États membres concernant la mise à disposition sur le marché des équipements sous pression. OJ L 189, 27.6.2014, p. 164–259.

Directive 2009/32/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 avril 2009 relative au rapprochement des législations des États membres concernant les solvants d'extraction utilisés dans la fabrication des denrées alimentaires et de leurs ingrédients (amendée par les directives 2010/59/EU et 2016/1855/EU). OJ L 141, 6.6.2009, p. 3–11.

Règlement (CE) n°1223/2009 du Parlement européen et du Conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques. OJ L 342, 22.12.2009, p. 59–209.

Chapitre II - Design and manufacturing  
of prototype extraction units

## II.1. Introduction

This chapter describes the manufacturing process of two extraction units (1 liter and 200 liters extractor), from the requirements definition to the implementation on site, including the dimensioning and the vessels manufacturing.

At the beginning of the thesis, Celsius has already patented the extraction process using liquefied gases in an isobaric mode (WO2012101361). They also manufactured a 500 liters extraction unit, called NECTACEL 500, in order to prove the technical feasibility of the process at industrial scale (Figure II. 1). However, this pilot plant was not adapted to perform laboratory scale experiments. Therefore, it emerged as essential to manufacture a small-scale pilot plant but still based on the operating mode. The objectives were to assess the potential of liquefied gases for the extraction of natural products but also to test the extraction process and the equipment themselves, in order to propose some improvements for the existing industrial pilot unit.

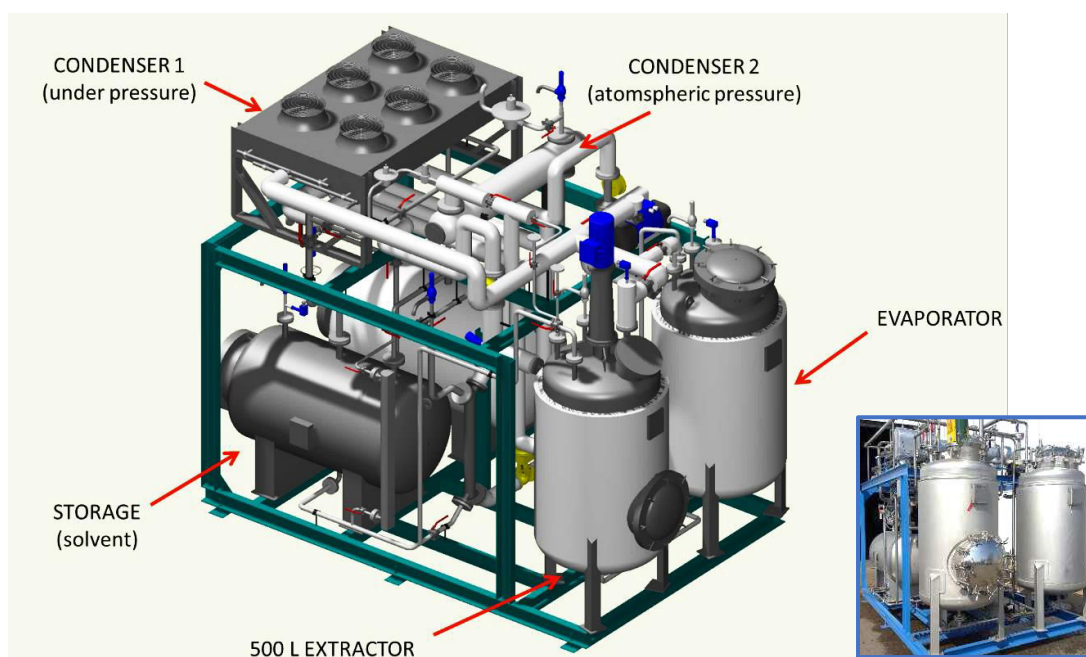


Figure II. 1 - NECTACEL 500 extraction unit

## II.2. General manufacturing process

The manufacturing process can be divided in 3 main sequential steps (Figure II. 3):

The preliminary survey is necessary to get enough data to establish a proper quotation according to the user's needs in terms of process (working mode, solvents, temperature, pressure...), sizing (volume, height, weight...), safety (explosion proof...), regulations (CE certification, food-grade...), automatism, budget etc.

Based on these constraints we were able to make several drawings, in particular:

- a PID (“Piping and Instrumentation Diagram”), which is the easiest way to get in one look all the instruments, valves and vessels necessary for the process and to see how they are interconnected.
- Draft drawings of the main vessels (extractor, boiler, condenser...)

Once these documents were validated by all the partners of the project (PEEV, UAPV & Celsius), we started the consultation of the suppliers (vessels, pipes, valves, stirrers, instruments but also thermal insulation, electricity wiring, transport, certification etc...) in order to get a final price and establish a proper quotation. The manufacturing step started when all the partners had agreed on the quotation.

The first step of the manufacturing process is to order the accessories (stirrers, pumps, valves and instruments) and to get the definitive drawings of the vessels. The goal is to get all the exact dimensions of each element in order to draw an overall drawing including all the vessels, valves, motors and instruments but also piping and supporting frame, with all the dimensions necessary for the manufacturing. Usually, the frame is the first element to be made, followed by the vessels and finally the piping. In case of chemical processes, equipment is mostly made in stainless steel (AISI 304 or 316L) which is resistant to rust and compatible with most chemicals.

In a classical range of pressure (1-50 barg), small volume vessels (< 500 L) are often made by welding together standard ISO elements: pipes and pipe elements (tube caps, connectors, elbows, tees...) which are commercially available from 10.2 up to 508 mm in diameter (Figure II. 2). Beyond that size or for higher pressures, vessels must be manufactured with customized parts, which are more expensive and time consuming.



Figure II. 2 - ISO standards piping elements used for vessels design

Vessels, piping and equipment are gradually assembled on the supporting frame. Once all the parts are connected, a leaking test followed by a hydraulic proof are made to ensure the proper sealing and the resistance to pressure of the assembly. Several inspections are made during the production to ensure the compliance with the current European directives, either by auto-control or through a

notified body (Apave, Tüv, etc.) depending on the operating pressure and volume. The higher is the pressure and/or the bigger is the volume, the greater the control will be. Once the assembly is certified and checked, it can be packaged for delivering to the final user.

The last step is the commissioning, when the final user verify if the unit is designed and works according to the requirements.

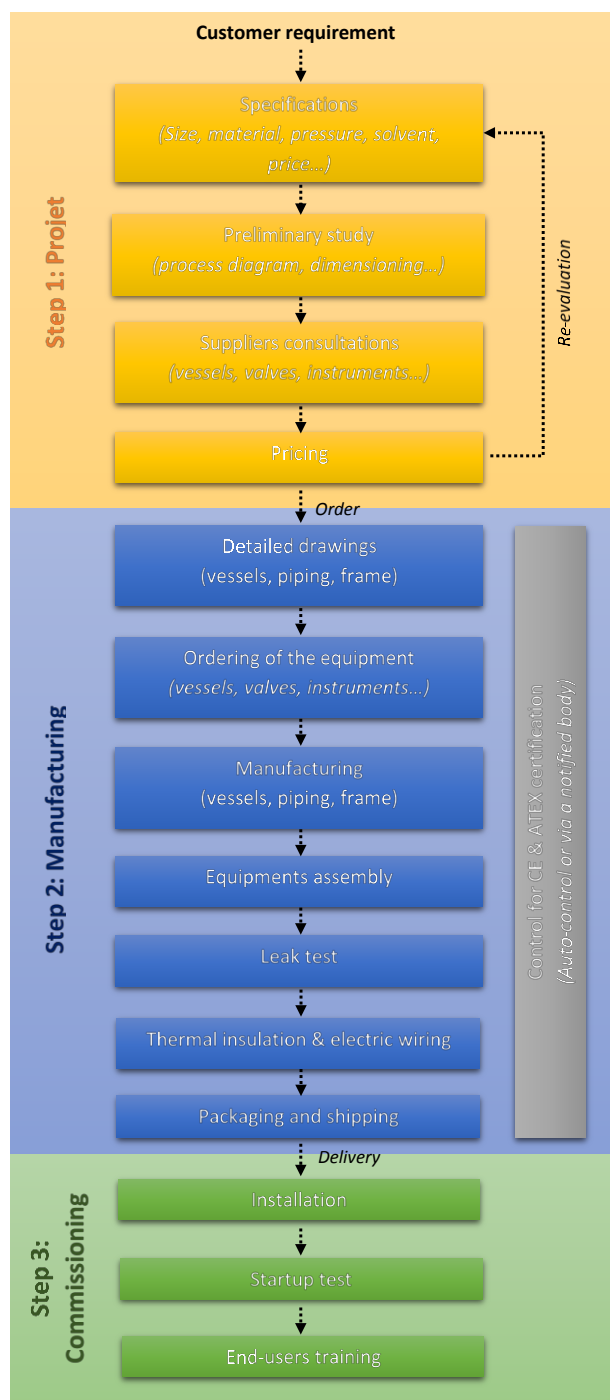


Figure II. 3 - Manufacturing process

## II.3. Manufacturing of NECTACEL 1

### II.3.1. Design

The NECTACEL 1 unit was ordered by the “Plateforme d’Eco-Extraction de Valréas” (a French technological platform dedicated to eco-extraction of natural products) to propose a new extraction technic to industrial and academics partners and test it with their own products. In the context of this thesis, this prototype extraction unit also gives Celsius the opportunity to evaluate in safe conditions its process with various plant material.

After discussion with PEEV, UAPV and Celsius the pilot plant must fulfill the following requirements:

- 1) a useful capacity of 1-2 liters
- 2) be movable and be able to fit through a standard doorway
- 3) be compatible with several solvents, in particular *n*-butane, HFO-1234ze and DME, filled from a classical gas bottle (26 L), with eventually a co-solvent
- 4) be made in stainless steel AISI 316L (food-grade steel)
- 5) be in compliance with the ATEX Directive so it can be used with flammable solvents
- 6) the cost should be as little as possible

Based on these requirements, we designed an extraction unit composed of 4 vessels disposed in vertical arrangement for easy solvent transfer by gravity.

Table II. 1 – Vessels specifications

Vessel	P (barg)	T (°C)	V (L)	Specificity
Extractor		0 / 50	1.0	- ATEX stirrer - 1L filtering basket - Temperature probe
Evaporator	-1 / 5	0 / 50	1.0	- Conical shape
Condenser		-25 / 30	4.5	- Shell and tubes type
Storage tank		0 / 30	2.5	- Level indicator - Gas bottle connection

These vessels are connected together to form a closed loop, even if each vessel can be isolated during the batch process. The liquid solvent naturally flow down from a vessel to the other by gravity whereas the vapors naturally rises from the evaporator to the condenser.

---

### **II.3.2. Manufacturing**

Once the PID was accepted, the manufacturing lasted about 3 months from the definitive drawings to the delivery (Figure II. 4). Due to the relative low dangerousness of the assembly, the certifications CE and ATEX could be made by auto-control, in respect of the rules of the art.

After being installed in the technological platform PEEV, the NECTACEL 1 unit has been tested using several plant material and solvents. The experiments performed at laboratory scale highlighted that some improvements should be made on the NECTACEL 500 pilot unit. The extractor in particular was found inconvenient to use during plant material loading and unloading steps through the side door. Therefore, we decided to replace the 500 L extractor by a smaller but easier to use 200 L extractor.



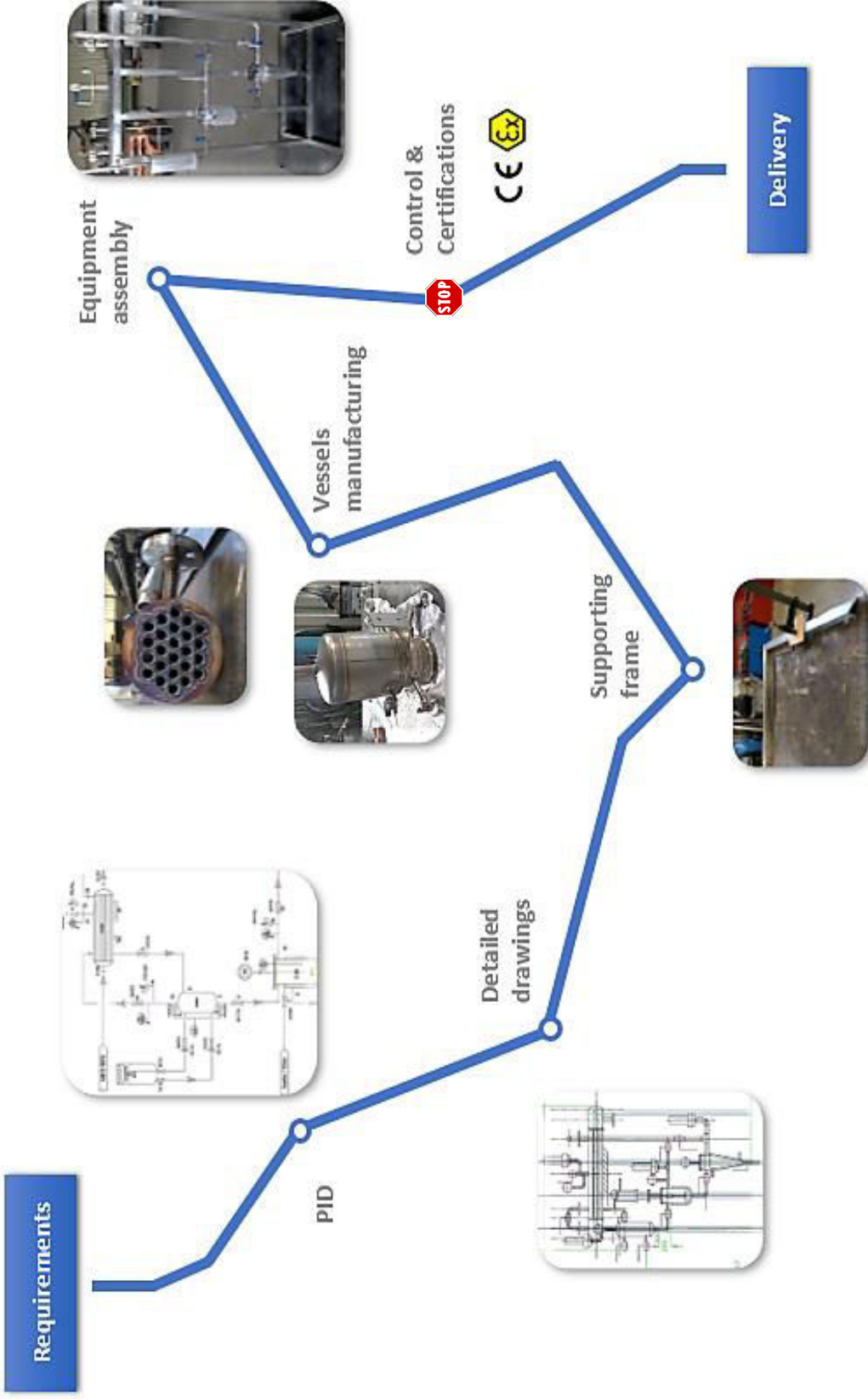


Figure II. 4 - NECTACEL 1 manufacturing process

## II.4. NECTACEL 500 upgrade

### II.4.1. Design

After discussion with partners of this project, the new extraction vessel must fulfill the following requirements:

- 1) a useful capacity of 200 liters
- 2) be easy to load and unload
- 3) be equipped with an ATEX stirrer
- 4) be compatible with *n*-butane, HFO-1234ze and DME
- 5) be adaptable on the NECTACEL 500 unit in order to use the existing evaporator, condensers and storage tanks.

Based on these requirements, we designed a 200 L (useful volume) extraction vessel with a top opening, for an easy loading/unloading using a filtering basket, and a bottom stirrer. The extractor is connected with the NECTACEL 500 using hoses but could also be re-used in the future as the first part of a new 200 L extraction unit.

### II.4.2. Manufacturing

Even if the extractor was manufacturing following the same process than NECTACEL 1, its higher capacity induced a tighter control (Figure II. 5) between almost each step of the production. First, a calculation note according to is required to check if the vessel has been correctly designed regarding to its resistance to internal pressure. Once the designed is approved, the manufacturing quality has been verified periodically by a notified body, in particular the quality of the welds, which are checked using X-ray radiography. A final test pressure at 1.3 times the maximal working pressure was necessary to get the CE certification. Finally, the extractor was delivered and installed at the “Plateforme d’Eco-Extraction de Valréas” and connected on the existing NECTACEL 500 using hoses. Since then the extractor is used by industrial customers for scale-up studies.

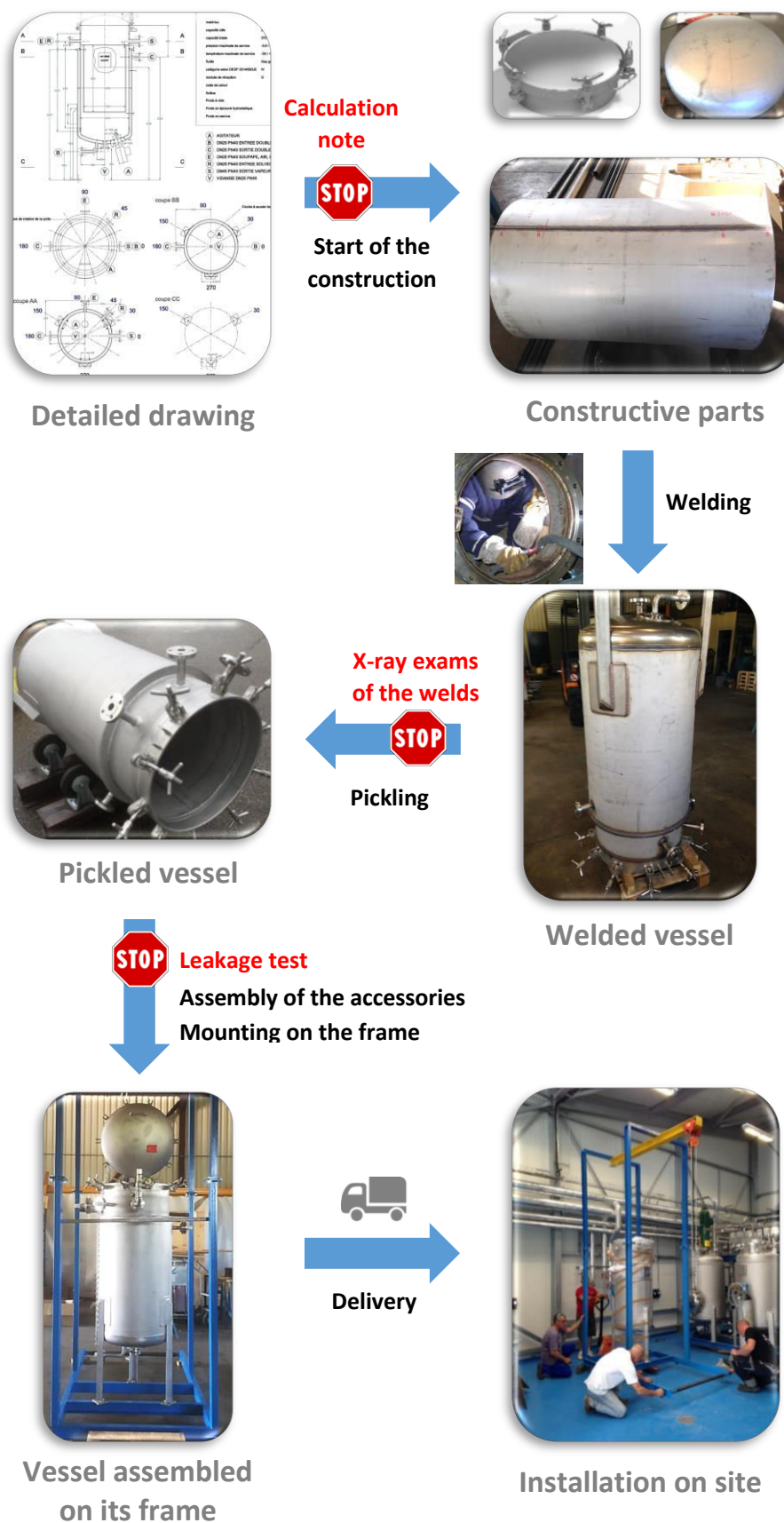


Figure II. 5 - Manufacturing of the 200L extractor

---

## II.5. Conclusion

Based on the existing NECTACEL 500, we fully designed and manufactured a 1 L equipment dedicated to laboratory experiments. This equipment was installed in a technological platform available for academics and industrials to perform safe experiments on their own plant material. In particular, we tested the performance of the equipment using several liquefied gases (*n*-butane, HFO-1234ze and DME) on well-known plant materials. This experience provided a valuable feedback about how we could improve the industrial extraction unit. As a first step, we manufactured a new 200 L extractor with a better loading system to perform more efficiently experiments at industrial scale.

# Chapitre III – Materials and methods

### III.1. Plant materials

In this thesis, extraction studies have been performed using various kinds of plant materials: carrots, olive leaves, rosemary leaves, sunflower seeds, rapeseeds, caraway seeds, lavender flowers and orange peels. They were selected because they are well known commercially available plants that represent the main target markets for liquefied gas extraction technology: bioactive compounds, oils and aromas.

#### III.1.1. Carrots

Dried carrots (*Daucus carota* L.) cubes used in Chapters IV and V were purchased from l'Herbier du Diois (Châtillon-en-Diois, France) and grounded in a fine powder just before use.



Figure III. 1 - Dried carrots (*Daucus carota* L.) cubes

#### III.1.2. Sunflower seeds

Sunflower seeds (*Helianthus annuus* L.) used in Chapter IV were purchased shelled from a local supplier and grounded just before use.



Figure III. 2 - Sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds

#### III.1.3. Caraway seeds

Caraway seeds (*Carum carvi* L.) used in Chapter IV were purchased as a powder from L'île aux épices (Port-Vendres, France).



Figure III. 3 - Caraway (*Carum carvi* L.) seeds

#### III.1.4. Olive leaves

Wild olive leaves (*Olea europaea* L.) used in Chapter V were collected nearby Avignon and then coarsely cut just before use. Initial moisture content was 4.0%.



Figure III. 4 - Olive (*Olea europaea* L.) leaves

#### III.1.5. Rosemary leaves

Dried rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis* L.) used in Chapter V were provided by Naturex (Avignon, France), collected in Morocco in 2013. Initial moisture content was 8.9% and initial content in carnolic acid was 1.7%.



Figure III. 5 - Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaves

### III.1.6. Rapeseeds

Rapeseeds (*Brassica napus* L.) used in Chapter V were provided by the Technical Institute for Oilseeds (Terres Inovia, Pessac, France). Seeds initial water and oil content were respectively 6.7% and 37.0%. Seeds were grounded just before use.



Figure III. 6 - Rapeseeds (*Brassica napus* L.)

### III.1.7. Lavender flowers

Dried lavender flowers (*Lavandula angustifolia* Mill.) used in Chapter VI were purchased l'Herbier du Diois (Châtillon-en-Diois, France). Flowers initial water content was 7.5%.



Figure III. 7 - Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) flowers

### III.1.8. Orange peels

Frozen orange peels (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) used in Chapter VI were purchased from a local supplier. Orange peels initial water content was 72.0%. Peels were unfrozen just before use.



Figure III. 8 - Orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) peels



## III.2. Solvents and reagents

Solvents and reagents used for experimentations and analysis are listed in the table below.

### III.2.1. Extraction solvents

Table III. 1 - List of solvents used for experiments

Solvent	N° CAS	Grade	Provider
<i>n</i> -butane	106-97-8	≥95%, odorless	INVENTEC
Dimethyl ether (DME)	115-10-6	≥99,9%	INVENTEC
trans-1,3,3,3-tetrafluoropropene (HFO-1234ze)	1645-83-6	≥99,5%	INVENTEC
<i>n</i> -hexane	110-54-3	Analytical	VWR
Ethanol	64-17-5	≥96%	VWR
Acetone	67-64-1	Technical	VWR
Water	7732-18-5	demineralized	-

### III.2.2. Analytical solvents

Table III. 2 - List of solvents used for analysis

Solvent	N° CAS	Grade	Provider
Acetonitrile	75-05-8	HPLC	Sigma-Aldrich
Dichloromethane	75-09-2	HPLC	Sigma-Aldrich
<i>tert</i> -butyl methyl ether (TBME)	1634-04-4	HPLC	Sigma-Aldrich
Chloroform	67-66-3	HPLC	VWR
<i>n</i> -hexane	110-54-3	HPLC	VWR
Acetone	67-64-1	HPLC	VWR
Diethyl ether	60-29-7	HPLC	VWR
Isopropanol	67-63-0	HPLC	VWR
Methanol	67-56-1	HPLC	VWR
Methyl acetate	79-20-9	HPLC	VWR
Ethanol	64-17-5	HPLC	VWR

### III.2.3. Reagents

Table III. 3 - List of reagents used for analysis

Reagent	N° CAS	Purity	Provider
Ammonium acetate	631-61-8	HPLC	Sigma-Aldrich
Trimethylsulfonium hydroxide (TMSH)	17287-03-5	HPLC	Sigma-Aldrich
Primuline	8064-60-6	HPLC	Sigma-Aldrich
Potassium chloride	7447-40-7	HPLC	Sigma-Aldrich
Acetic acid	64-19-7	HPLC	Sigma-Aldrich
Sodium Carbonate	497-19-8	HPLC	Sigma-Aldrich
Phosphoric acid	7664-38-2	HPLC	Sigma-Aldrich
Folin's phenol reagent	/	HPLC	Merck Millipore

### III.2.4. Standards

Table III. 4 - List of standards used for analysis

Standard	N° CAS	Purity	Provider
$\beta$ -carotene	7235-40-7	>98% (UV)	Extrasynthèse
d-carvone	99-49-0	>98%	Sigma-Aldrich
d-limonene	5989-27-5	>99%	Sigma-Aldrich
Oleuropein	32619-42-4	>98%	Sigma-Aldrich
Carnosic acid	3650-09-7	>97%	Sigma-Aldrich
Fatty Acids Methyl Esters mix (Supelco 37 FAME mix)	/	/	Sigma-Aldrich
Pentadecanoic acid (C15:0)	1002-84-2	99%	Sigma-Aldrich
Triheptadecanoin (C17:0 TAG)	2438-40-6	>99%	Sigma-Aldrich
1-glycerol palmitate (MAG)	542-44-9	>98%	Sigma-Aldrich
1,3-glycerol dipalmitate (DAG)	502-52-3	>98%	Sigma-Aldrich
Glycerol tripalmitate (TAG)	55-44-2	>98%	Sigma-Aldrich
Palmitic acid (FFA)	57-10-3	>98%	Sigma-Aldrich
Ergosterol	57-87-4	>98%	Sigma-Aldrich
Phosphatidylcholine	8002-43-5	>98%	Sigma-Aldrich
Phosphatidylethanolamine	39382-08-6	>98%	Sigma-Aldrich
Lysophosphatidylcholine	9008-30-4	>98%	Sigma-Aldrich

### III.3. Computational methods

#### III.3.1. Hansen Solubility Parameters

Initially developed by Hansen [1] in 1969, Hansen Solubility Parameters (HSP) provide a convenient way to characterize solute-solvent interactions according to the classical “like dissolves like” rule. HSP are based on the concept that the total cohesive energy density is approximated by the sum of the energy densities required to overcome atomic dispersion forces ( $\delta_d^2$ ), molecular polar forces arising from dipole moments ( $\delta_p^2$ ) and hydrogen bonds between molecules ( $\delta_h^2$ ), as given in the following equation (Eq. 1).

$$\delta_{\text{total}}^2 = \delta_d^2 + \delta_p^2 + \delta_h^2 \quad (\text{Eq. 1})$$

Where  $\delta_{\text{total}}$  is the Hansen total solubility parameter, which can be split into three solubility parameters:  $\delta_d$ , for dispersive forces;  $\delta_p$ , for dipolar interactions and  $\delta_h$ , for hydrogen-bonding.

For HSP solvent optimization, the relative energy difference (RED) is calculated using the following equation (Eq. 2) to evaluate the solubility between solvent and solute.

$$\text{RED} = R_a/R_0 \quad (\text{Eq. 2})$$

Where  $R_0$  is the radius of a Hansen solubility sphere and  $R_a$  is the distance of a solvent from the center of the Hansen solubility sphere, given by the following equation (Eq. 3):

$$R_a^2 = 4(\delta_dA - \delta_dB)^2 + (\delta_pA - \delta_pB)^2 + (\delta_hA - \delta_hB)^2 \quad (\text{Eq. 3})$$

Where A refers to the solute and B refers to the solvent. The smaller  $R_a$  is the greater affinity between solute and solvent.

The chemical structures of the solvents and solutes discussed in this article are transformed into their simplified molecular input line entry syntax (SMILES) notations, which were subsequently used to calculate the HSP of each molecule. These parameters were further modeled to a three dimensional HSP sphere for better visualizing the distance between solute/solvent so their interactions (HSPiP Version 5.0.03, Hansen-Solubility, Hørsholm, Denmark).

#### III.3.2. COSMO-RS

The Conductor-like Screening Model for Real Solvents (COSMO-RS) is a calculation method developed by Klamt [2] using a quantum chemistry model based on the prediction of chemical potential of a substance in the liquid phase. COSMO-RS can be used as powerful tool for solvent screening [3–5].

COSMO-RS procedure comprised 2 steps at different scales: a microscopic scale step followed by a macroscopic scale step. First, the COSMO model is used to apply a virtual conductor environment for

the molecule, inducing a polarization charge density on its surface: the  $\sigma$ -surface (Figure III. 9). The green color corresponds to a charge density equal to 0, the blue color to a positive charge density ( $\delta^+$ ) and the red color to a negative charge density ( $\delta^-$ ). The molecule structure and the charge distribution are then optimized in order to obtain the minimal energy of the system using algorithm-based calculations (Density Functional Theory).

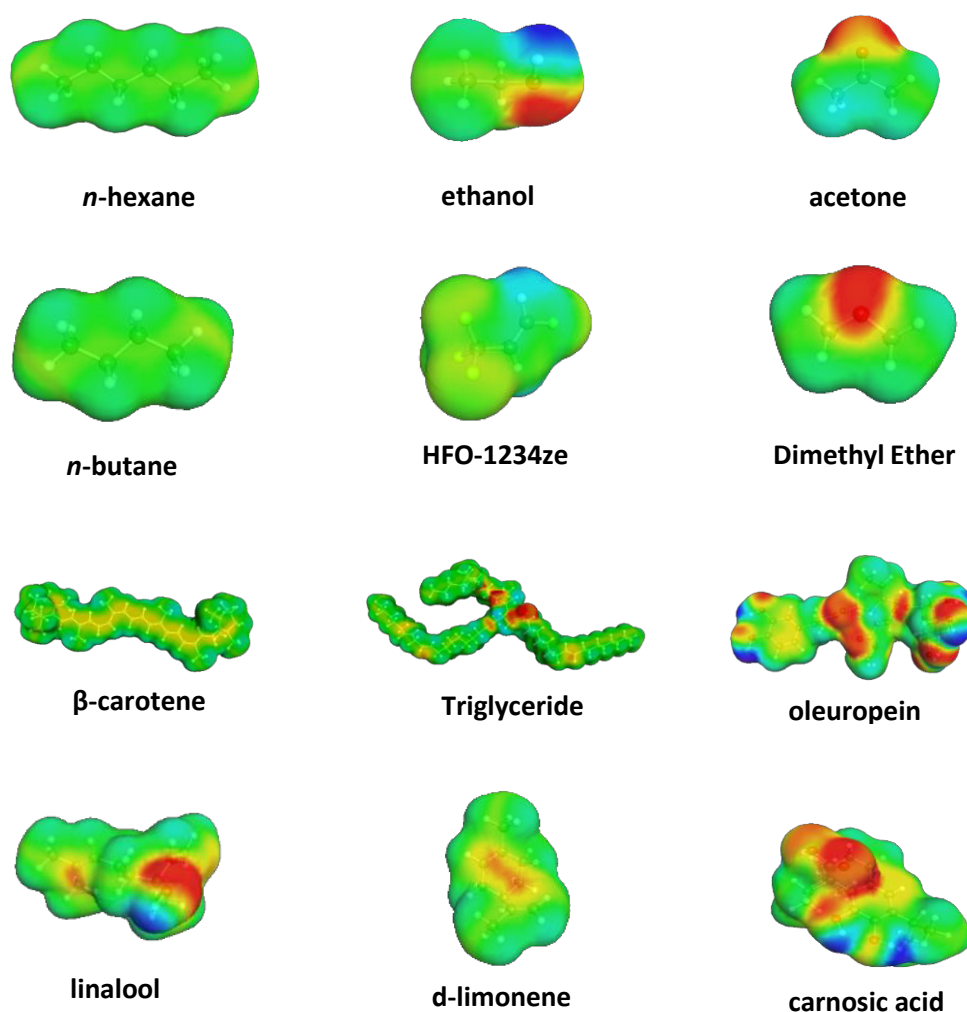


Figure III. 9 –  $\sigma$ -surfaces of some common solvents, liquefied gases and natural compounds used in this study

Based on the obtained polarization charge density, the solute interaction energy is quantified using a statistical thermodynamic calculation. The spatial distribution of the polarization charge is converted into a composition function:  $\sigma$ -profile. This  $\sigma$ -profile provides information about the molecular polarity distribution. At this stage, the molecule is considered as isolated so interactions with neighboring molecules are not taken in account. In order to consider the molecule as a solvent (or a solute in a

solvent), this function is then integrated to calculate the chemical potential of the surface ( $\sigma$ -potential) using COSMOthermX program (version C30 release 16.02). The  $\sigma$ -potential can be interpreted as the affinity between a solvent  $S$  and the surface  $\sigma$ . Solvent interactions are reduced to a combination of local interactions between a pair of surface portions with charge densities  $\sigma$  and  $\sigma'$ . The interaction energy functional  $E_{int}$  (Eq. 4) is defined as the sum of three contributions.

$$E_{int} = E_{misfit} + E_{hb} + E_{vdw}$$

Where  $E_{misfit}$  is the interaction energy between two surfaces of different charge density;  $E_{hb}$  is the hydrogen bonding (HB) energy;  $E_{vdw}$  is Van der Waals interactions.

Statistical thermodynamic calculations are then used to calculate macroscopic properties from these molecular interactions. In particular, the determination of the chemical potential is used to predict almost all thermodynamic properties of compounds or mixtures of compounds, including solubility.

In practice, the software COSMOthermX calculates the theoretical solubility of a solute in the solvent, expressed as the log of the mole fraction of the solute:  $\log(x_{solub})$ . The relative solubility is calculated from the following equation (Eq. 5) [6]

$$\log_{10}(x_j) = \log_{10} \left[ \frac{\exp(\mu_j^{pure} - \mu_j^{solvent} - \Delta G_{j,fusion})}{RT} \right] \quad (\text{Eq. 5})$$

with  $\mu_j^{pure}$ : chemical potential of pure compound  $j$ ;  $\mu_j^{solvent}$ : chemical potential of  $j$  at infinite dilution;  $\Delta G_{j,fusion}$ : free energy of fusion of  $j$ ;  $x_j$ : solubility of  $j$ .

Relative solubility is always calculated in infinite dilution. The logarithm of the best solubility is set to 0 and all other solvents are given relatively to the best solvent. As an example, a solute with  $\log(x_{solub}) = -1$  in a solvent  $S$  has, in theory, a solubility which is 10 times lower than the same solute in the best solvent ( $\log(x_{solub}) = 0$ ). All the calculations were performed at 40 °C, considering that both solvent and solute are in a liquid state.

## III.4. Extraction procedures

### III.4.1. Liquefied gases apparatus and extraction procedure

Extractions were performed on a 1 liter pilot plant presented in Figure III. 10. The unit designed has the specificity to rely on gravity for the liquefied gases circulation in the equipment in an isobaric mode. After extraction, the liquefied gas is evaporated in an evaporator, where the liquefied gas turns into gas. Vapors are condensed in a condenser (cooling temperature = -5 °C) and stored in a storage tank

which further supplies liquefied gases for extraction. This way about 95% of gas is recycled in 15 minutes.

Using liquefied gases as solvent for solid-liquid extractions requires an equipment resistant to the vapor pressure generated by liquefied gases at room temperature (up to 600 kPa). The unit comprises 4 stainless steel vessels: a solvent storage tank (4), a double-jacketed stainless steel extractor of 1.5 liter (5), a double-jacketed stainless steel evaporator (7) and a stainless steel condenser (8). Each vessel is equipped with a manometer (2) and a safety valve (3).

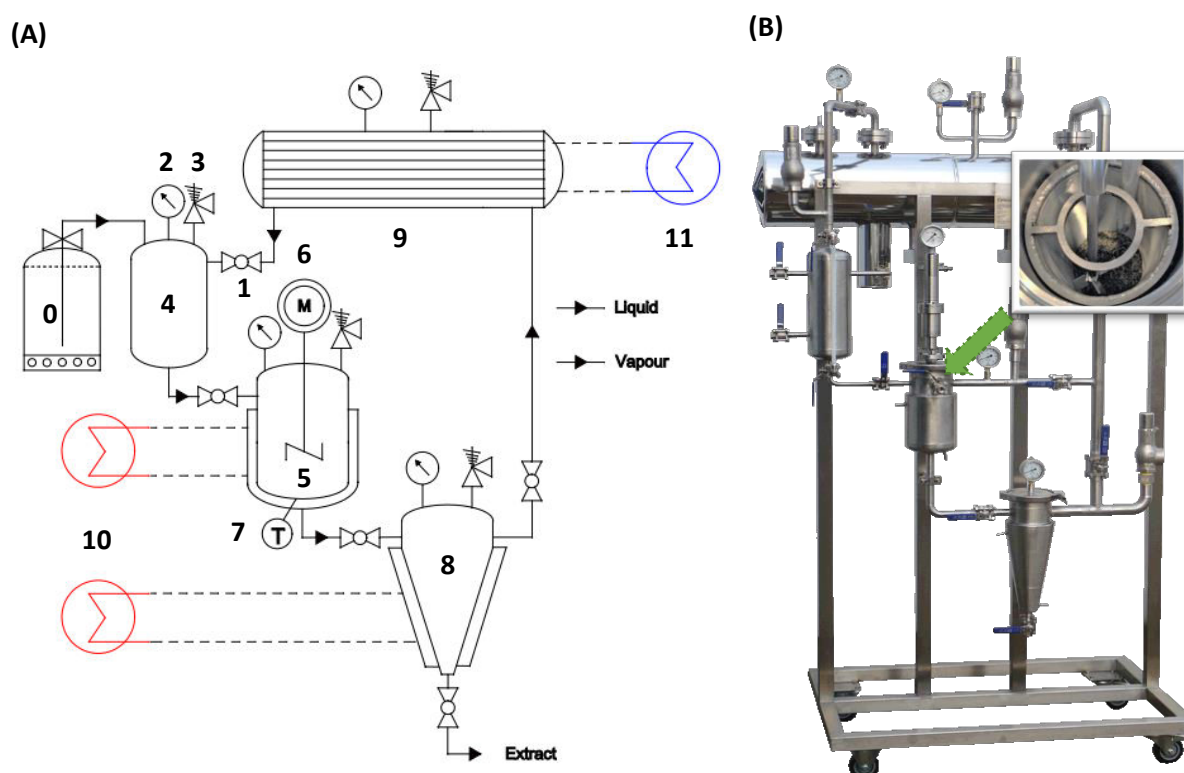


Figure III. 10 - (A) NECTACEL® 1 - Tailor-made extraction-unit for extractions using liquefied gases as solvent: 0, liquefied gas bottle; 1, valve; 2, manometer; 3, safety valve; 4, solvent storage tank; 5, double jacketed stainless steel extractor; 6, pneumatic stirrer; 7, thermometer; 8, double jacketed stainless steel evaporator; 9, stainless steel condenser; 10, Heated bath circulator; 11, Cooling bath circulator – (B) 1-liter extraction unit manufactured by Celsius Sarl (Villette de Vienne, France)

Liquefied gas extractions were performed using the following general procedure. First, **M** g of ground material is introduced in a filtering sock (porosity 50  $\mu\text{m}$ ) placed inside the extractor (5) then the all device is placed under vacuum to remove oxygen. Next, the liquefied gas is transferred from its bottle (0) to the storage tank (4). About **V** liters of liquefied gas is introduced into the extractor at room temperature under pressure (20 °C). The solvent is then flowed by gravity to the extractor (5). The extractor is heated at **T** °C *via* the double jacket during **H** hours.

After **H** hours of solid/liquid contacting, the solvent containing the extract is transferred to the evaporator (7) where the solvent is evaporated. The vapors of solvent go up to the condenser (8) for recycling while the extract remains at the bottom of the evaporator. As the solvent is fully recycled, the operation can be renewed several times to improve the extraction yield. Finally, the remaining extract is collected in a flask, solubilized in 100 mL of *n*-hexane for analysis purpose and stored at 4 °C prior to analysis. Each extraction was made in duplicate.

Table III. 5 - Operating conditions used for liquefied gas extractions

Solvent	Matrix	M (g)	V (L)	T (°C)	H (hours)	Stirring
<i>n</i> -butane	carrots	75	1.5	20 / 30 / 40	2	No
<i>n</i> -butane	sunflower seeds	75	1.5	20 / 30 / 40	2	No
<i>n</i> -butane	caraway seeds	75	1.5	20 / 30 / 40	2	No
HFO-1234ze	carrots	100	1.0	30	3x1	750 rpm
HFO-1234ze	olive leaves	100	1.0	30	3x1	750 rpm
HFO-1234ze	rosemary leaves	100	1.0	30	3x1	750 rpm
HFO-1234ze	rapeseeds	100	1.0	30	0.25 / 0.5 / 1 / 2 1x15 / 2x15 / 8x15	750 rpm
<i>n</i> -butane	lavender flowers	100	1.0	25	4x1	No
<i>n</i> -butane	orange peels	100	1.0	25	4x1	No
HFO-123ze	lavender flowers	100	1.0	25	4x1	No
HFO-1234ze	orange peels	100	1.0	25	4x1	No
DME	lavender flowers	100	1.0	25	4x1	No
DME	orange peels	100	1.0	25	4x1	No

### III.4.2. Conventional reference methods

#### III.4.2.1. *n*-hexane macerations of carrots cubes, sunflower seeds and caraway seeds

Reflux extraction using *n*-hexane was used as reference extraction procedure, in comparison with *n*-butane extractions. 10 g of raw material are weighed and placed in a flask containing 100 mL of *n*-hexane. The mixture was heated at boiling point (68 °C) during 2 hours. After cooling at ambient temperature, the mixture was filtered (1.6 µm) to separate solid residues and then *n*-hexane was evaporated using a rotary vacuum evaporator (40 °C; 25 kPa). Extract was stored at 4 °C prior to analysis. Each extraction was made in triplicate.

#### *III.4.2.2. n-hexane macerations of rapeseed and carrots cubes*

Reflux extraction using *n*-hexane was used as reference extraction procedure for extraction of oil and carotenoids [7, 8]. 10 g of raw material are weighed and placed in a flask containing 100 mL of *n*-hexane. The mixture was heated at *n*-hexane boiling point (68 °C) during 1 hour. After cooling at ambient temperature, the mixture was filtered (20 µm) to separate solid residues and then *n*-hexane was evaporated using a rotary vacuum evaporator (40 °C; 25 kPa). This operation was repeated 2 times to ensure a complete extraction. Extracts were collected and stored at -20 °C prior to analysis.

#### *III.4.2.3. Ethanol/water macerations of olive leaves*

Maceration using a mixture ethanol/water was used as reference extraction procedure for extraction of olive leaf polyphenols [9]. 10 g of raw material are weighed and placed in a flask containing 100 mL of a mixture ethanol/water (80:20, mass ratio). The mixture was heated at 60 °C during 1 hour. After cooling at ambient temperature, the mixture was filtered (20 µm) to separate solid residues and then the solvent was evaporated using a rotary vacuum evaporator (40 °C; 7 kPa). This operation was repeated 2 times to ensure a complete extraction. Extracts were collected and stored at 4 °C prior to analysis.

#### *III.4.2.4. Acetone extraction of rosemary leaves*

Maceration under reflux using acetone was used as reference extraction procedure [10] for extraction of carnosic acid, found rosemary leaves. 83.5 g of raw material were weighed and placed in a flask containing 500 mL of acetone. The mixture was heated at boiling point (56 °C) during 1 hour. After cooling at ambient temperature, the mixture was filtered to separate solid residues and then acetone was evaporated using a rotary vacuum evaporator (40 °C; 50 kPa). Extracts were collected and stored at 4 °C prior to analysis.

#### *III.4.2.5. n-hexane macerations of lavender flowers and orange peels*

As the liquefied gases chosen in this study are mostly lipophilic, *n*-hexane was chosen as reference conventional extraction solvent. Extractions were performed in the NECTACEL extraction vessel (5) using the following procedure: 100 g of plant material are introduced in a cellulose sock (porosity 50 µm) placed inside the extractor. Next 0.9 liter of *n*-hexane is added and the mixture is heated at 25 °C *via* the double jacket. After 1 h of solid/liquid contacting, the solvent containing the extract is collected and 0.9 liter of fresh solvent is introduced in the extractor. The operation is renewed 3 times for a total extraction duration of 4x1 h. After cooling at ambient temperature, the mixture was filtered (20 µm) to separate solid residues and then *n*-hexane was evaporated using a rotary vacuum evaporator (40 °C; 30 kPa). Each extraction was made in duplicate.



#### III.4.2.6. Hydrodistillation (HD) of lavender flowers and orange peels

In order to get a base point for chemical composition and sensory analysis, essential oils were made using the following procedure: 430 g of plant material (lavender flowers or orange peels) are soaked in 4.3 L of water and hydro-distilled using a Clevenger-type apparatus for 2 h. The essential oil is then collected, dried under anhydrous sodium sulfate and weighed. Each distillation was made in duplicate.

### III.5. Analytical methods

#### III.5.1. Analysis of carotenoids by high performance liquid chromatography

The protocol was adapted from Yara-Varon *et al.* [11]. Identification of carotenoids in carrot oleoresin was performed by high performance liquid chromatography (Agilent 1100) equipped with a UV-Vis detector (Diode Array Detector) under the following conditions: Eluent, acetonitrile / methanol (with 0.6 g/100 g of ammonium acetate) / dichloromethane (ratio : 77/20/3, mL/mL/mL) in an isocratic mode; Injection volume, 10  $\mu$ L; column, C18 column (150 x 3 mm - 3  $\mu$ m - flow rate = 1.4 ml/min); temperature, 25  $^{\circ}$ C; detector, diode array detector set at 464 nm. Carrot oleoresin was diluted in chloroform prior to injection. Quantification was made using external calibration with a  $\beta$ -carotene standard (UV purity >98%). Results are expressed in grams for 100 grams of oleoresin sample.

#### III.5.2. Ultra Violet (UV) spectroscopy determination of total carotenoid content

The protocol is adapted from Yara-Varon *et al.* [11]. The carotenoid content in the extracts was measured spectrophotometrically (Biochrom Libra S22 UV/Vis Spectrophotometer, Cambridge, England) in a 1 cm optical path-length quartz cell at 450 nm for  $\beta$ -carotene in each extract against the *n*-hexane used as a blank. The following equation (Eq. 6) was used to calculate the carotenoid concentration, C (mg L<sup>-1</sup>) [12]:

$$C = \frac{A_{\lambda_{max}} \times 10^4}{A_{1\text{ cm}}^{1\%}} \quad (\text{Eq. 6})$$

where  $A_{\lambda_{max}}$  is the absorbance of the extract at  $\lambda_{max}$  and  $A_{1\text{ cm}}^{1\%}$  is the absorption coefficient (absorbance at a given wavelength of a 1 g/100 g solution in a spectrophotometer cuvette with a 1 cm light path) of  $\beta$ -carotene in the respective solvent. The absorption coefficient was 2592 in *n*-hexane at 450 nm. Finally the yield of carotenoids in each extract was calculated and expressed as mg ( $\beta$ -carotene) 100 g<sup>-1</sup> of dry matter.

### III.5.3. Gas chromatography analysis of aromatic compounds

The detection of carvone and limonene in caraway essential oil was performed by gas chromatography (GC 7890, Agilent Technologies, Santa Clara, USA) equipped with a FID and quadrupole detector under the following conditions: vector gas, Helium (1.1 mL/min); injector temperature, 250 °C; injected volume, 1 µL; split, 1:100; column, VF-MAX type (30 m x 0.25 mm, film thickness x 0.25 µm, Agilent J&W Scientific, Folsom, USA); temperature gradient, 60 °C for 1 min, increased at 240 °C (rate: 3 °C/min) and held for 5 min. The detection is done by the FID at 250 °C. Carvi oleoresins are diluted in acetone prior to injection. For identified compounds, quantification is made with MS detector. Quadrupole is set at 150 °C with a source and transfer line at 230 °C. Helium flow rate is kept at 1.1 mL/min. Quantification of carvone and limonene is performed using external calibration with corresponding standards.

### III.5.4. Gas chromatography analysis of fatty acids in sunflower oil

Identification and quantification of fatty acids in sunflower oil was performed by gas chromatography (GC 3800 VARIAN Agilent Technologies, Santa Clara, USA) equipped with a FID detector under the following operating conditions: vector gas, Helium (207 kPa); injected volume, 1 µL; split, 1:50; column, DB32 type (60 m x 0.25 mm; film thickness x 0.25 µm, Agilent J&W Scientific, Folsom, USA); oven temperature, 120 °C; temperature program: 120 °C for 5 min, increased at 200 °C (rate: 5 °C/min) and held for 10 min, increased at 230 °C (rate: 2 °C/min) and held during 15 min.

Fatty acid methyl esters were obtained according to the following procedure: triglycerides were diluted in TBME (100 mg of oil into 10 mL of TBME). To 200 µL of this mixture were added 100 µL of TMSH for transesterification and derivatization of fatty acids. Detection of eluted fatty acids methyl esters (FAMES) is done by FID at 300 °C. Eluted FAMES are identified by their retention time in comparison with a standard mix (Supelco 37 FAME mix, Sigma-Aldrich, USA). Quantification is performed by internal standard calibration (C15:0). Results are expressed in grams of a given fatty acid in 100 grams of the sunflower oil sample.

### III.5.5. Gas chromatography analysis of fatty acids in rapeseed oil

FAMES were prepared from the lipid extract using acid-catalyzed transmethylation as described by Morrison et Smith [13]. 1 mL of methanolic sulfuric acid (5 g/100 g) solution was added to a specific amount of extracted oil. Triheptadecanoin (C17:0 TAG) was used as internal standard. The mixture was then heated during 90 min at 85 °C. After, the flask was removed from heat, and 1.5 mL of KCl solution (0.9 g/100 g) and 1 mL of *n*-hexane were added. The flask was closed and shaken vigorously during 30

s. A small amount of the organic layer was recovered and transferred to a vial before being injected directly in GC-FID for analysis.

Fatty acid methyl esters were separated, identified and quantified by gas chromatography coupled with a flame ionization detector (GC/FID). Analyses were performed by using an Agilent (Kyoto, Japan) gas chromatograph. The instrument was equipped with a BD-EN14103 capillary column 30 m × 320 μm × 0.25 μm (Agilent), and the velocity of the carrier gas (He) was set at 33 cm/s. Injection of 2 μL of the various samples was carried out with a split mode (split ratio 1:20), and the injector temperature was set at 250 °C. The oven temperature was initially set at 50 °C for 1 min and then progressively increased at a rate of 20 °C/min from 50 °C to 180 °C and then from 180 °C to 220 °C at a rate of 2 °C/min. The temperature was then held at 230 °C during 10 min. FAMES in each extract were identified by retention time and comparison with purified FAME standards (Sigma Co., St. Louis, MO, USA).

#### III.5.6. HPTLC determination of lipid classes

The lipid classes of rapeseed oils were determined using High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC).

HPTLC plates silica gel 60 F254 were washed by pre-development with a mixture of chloroform/methanol (2/1, v/v), followed by drying at 110 °C for 60 min on the TLC Plate Heater (CAMAG, Muttenz, Switzerland).

Standards solutions were prepared by dissolving about 10 mg of each lipid in 50 mL of chloroform (0.2 mg/mL). For samples solutions, about 20 mg (1 mg/mL) of pure oil were dissolved in 20 mL of chloroform. The stock solutions were stored in the dark at -20 °C.

Lipid classes were determined by two different developments chromatography to separate polar and neutral classes. Lipids were quantified by a CAMAG 3 TLC scanning densitometer (CAMAG, Muttenz, Switzerland) with identification of the classes against known polar and neutral lipid standards. Lipid extracts were loaded as a spot onto 20 × 10 cm Silica gel 60 F254 HPTLC plates (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) using an ATS 5 automatic TLC sampler (CAMAG). The HPTLC silica gel plates were developed with a mixture of solvents in an ADC2 automatic developing chamber (CAMAG). The first eluent to separate polar lipids was a mixture of methyl acetate/isopropanol/chloroform/methanol/KCl (0.25% solution) in a ratio of 25:25:25:10:9 v/v/v/v/v running to a height of 7 cm from the origin. On another plate, the second eluent was a mixture of *n*-hexane/diethyl ether/glacial acetic acid in a ratio of 70:30:2 v/v/v until it reaches a height of 7 cm from the origin, in order to separate neutral lipids. After being dried, the plate was dipped for 6 seconds in a reagent (10 mg of primuline, 160 mL of

acetone, 40 mL of water) and then scanned using a TLC Scanner 3 with WinCATs software (CAMAG). Lipid classes were identified and quantified against those of corresponding lipid standards.

### III.5.7. Spectrophotometric determination of polyphenols content

Polyphenols content in the extracts was measured spectrophotometrically (Biochrom Libra S22 UV/Vis Spectrophotometer, Cambridge, England) in a 1 cm optical path-length quartz cell at 760 nm for oleuropein. A calibration curve of oleuropein in ethanol was performed in concentration range 0.25 to 1.0 mg/mL.

The samples were prepared according to the following procedure: in a test tube, 50  $\mu$ L of sample (or standard solution) and 1250  $\mu$ L of a solution of Folin reagent (20 mL/100 mL) were mixed. After 1 min, 1 mL of solution of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10 g/100 g) was added in the test tube. The tube was left 30 min in the dark before analysis at 760 nm. Samples with an absorbance value above 1 were appropriately diluted.

### III.5.8. Quantification of carnosic acid

The following protocol is adapted from Jacotet-Navarro *et al.* [14]. Determination of carnosic acid content in rosemary leaves extracts was done by HPLC (Agilent 1100, France) equipped with a diode array detector (DAD). The column was a C18 (1.8  $\mu$ m, 4.6 mm x 50 mm, Zorbax Eclipse XBD-C18, Agilent Technologies, France), the mobile phase (isocratic mode) was composed of 65 % acetonitrile and 35 % water with 0.5 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (v/v), and the flow rate was set at 1.5 mL/min; the column oven temperature was set at 25 °C. 5  $\mu$ L were injected. Carnosic acid was detected at 230 nm.

### III.5.9. GC-MS analysis of aromatic compounds

The chemical composition of each extract was determined by GC-MS analysis. Samples solutions were prepared at 33 g/L in ethanol. Liquid injection was conducted with a CTC installed on an Agilent 6890 GC hyphenated to a 5973N MS simple quad (Agilent Technologies, USA). The injection volume was set as 1.5  $\mu$ L. The following parameters were used for GC-MS analyses : column Supelcowax 10 (SUPELCO) (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m) ; temperature = from 40 °C (2 min) to 240 °C at 3 °C/min and maintained 5 minutes; carrier gas = helium ; flow rate = 1.3 mL/min. A simple quad mass spectrometer was used for detection. Mass spectra were recorded in electron ionization (EI) mode at 70 eV. The transfer line and the ion source were set at 250 °C and 230 °C, respectively. Mass spectra were scanned in the range m/z 30-450 amu. Compound identification was carried out by comparison of mass spectra recorded and mass spectra from several libraries (Adams, ISIPCA and Nist11 libraries). Each analysis was made in triplicate.

### III.5.10. Sensory analysis of lavender and orange extracts

In order to compare the olfactory perception of each extract, a sensory analysis was performed by 7 highly trained panelists (only women, between 53 and 67 years old) in olfaction from the French institute ISIPCA (*Institut Supérieur International du Parfum de la Cosmétique et de l'Aromatique alimentaire*), with at least one training session per week for 2 and half years.

#### III.5.10.1. Products

Orange and lavender extracts 2% solutions were prepared in ethanol. Scents cards coded with three random digits were dipped inside and then presented to panelists. The samples were coded with three random digits and served in sequential monadic order to avoid carry-over effects.

#### III.5.10.2. ISIPCA's odors wheel

The panelists have been involved in creating a tool named as "ISIPCA'Smell" (Odors Wheel). To do so, they have generated their own terms to describe odors in different categories (ex. Floral and Woody). Then, subcategories (ex. White flowers, Dry wood) were defined by means of sorting tasks on olfactory raw materials. A reference raw material is therefore designate to each subcategory. The under-development "ISIPCA'Smell" contains already 82 items divided in 10 categories and 21 sub-categories. Ten panelists have participated in the development of this tool, among which 7 participated in sensory evaluation of our products.

#### III.5.10.3. Descriptive analysis (Check-All-That-Apply-CATA via "ISIPCA'Smell" tool)

Seven experts answered "Check-all-that-apply" (CATA) questions containing descriptors within "ISIPCA'Smell" tool. The presentation of the terms of the CATA question is in the form of a hierarchical tree. This hierarchical presentation includes the headings: Main categories, sub-categories and olfactory notes. Panelists were asked to check all attributes they considered appropriate to describe each sample in digital forms using Fizz Sensory Analysis Software (Biosystèmes, France). The samples were coded with three random digits and served in sequential monadic order, taking care to avoid carry-over effects. Sensory evaluation was carried out during two different days, with one session for each product (1 session for orange extracts and 1 session for lavender extracts) and a one-week interval between sessions.

#### III.5.10.4. Evaluation conditions:

The tests were conducted in individual booths with the temperature of 20°C and white lighting. Panelists were allowed to take pauses whenever needed. The sessions were conducted in the Sensory Analysis Laboratory of the ISIPCA.

#### *III.5.10.5. Data analysis*

Frequency of use of each CATA term was determined by counting the number of expert that used that term to describe each sample. Correspondence analysis (CA) was performed on the frequency table of terms most frequently cited for each type of the product. CA was performed considering Euclidean distances. A hierarchical cluster analysis (HCA) with the Ward criteria was finally applied to all CAs dimensions. All statistical analyses were performed using XLSTAT (version 2015).

#### **III.5.11. Observation of lavender flowers using scanning electron microscopy (SEM)**

Scanning electron microscopy was used to examine the physical aspect of the lavender flowers after being extracted by HFO-1234ze, *n*-butane, DME, *n*-hexane and water. For each sample, some flowers have been randomly selected and stuck using double-face adhesive tape on an aluminum plate before they were sputter-coated in gold using a SCD 004 sputter (BALZERS, Switzerland). Finally, the samples were observed at 10 kV using an XL30 scanning electron microscope (FEI-Philips, USA).

### III.6. References

1. Hansen CM (1969) The universality of the solubility parameter. *Industrial & Engineering Chemistry Product Research and Development* 8:2–11
2. Klamt A (2003) Prediction of the mutual solubilities of hydrocarbons and water with COSMO-RS. *Fluid Phase Equilibria* 206:223–235
3. Filly A, Fabiano-Tixier AS, Fernandez X, Chemat F (2015) Alternative solvents for extraction of food aromas. Experimental and COSMO-RS study. *LWT - Food Science and Technology* 61:33–40
4. Sicaire A-G, Vian M, Fine F, Carre P, Tostain S, Chemat F (2015) Experimental approach versus COSMO-RS assisted solvent screening for predicting the solubility of rapeseed oil. *OCL* 22:1–7
5. Suberu J, Yamin P, Cornell R, Sam A, Lapkin A (2016) Feasibility of using 2,3,3,3-tetrafluoropropene (R1234yf) as a solvent for solid-liquid extraction of biopharmaceuticals. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 4:2559–2568
6. COSMOlogic GmbH & Co. (2013) COSMOthermX Tutorial
7. Sicaire A-G, Vian M, Fine F, Joffre F, Carre P, Tostain S, Chemat F (2015) Alternative bio-based solvents for extraction of fat and oils: solubility prediction, global yield, extraction kinetics, chemical composition and cost of manufacturing. *International journal of molecular sciences* 16:8430–8453
8. Yara-Varon E, Fabiano-Tixier AS, Balcells M, Canela-Garayoa R, Bily A, Chemat F (2016) Is it possible to substitute hexane with green solvents for extraction of carotenoids? A theoretical versus experimental solubility study. *RSC Advances* 6:27750–27759
9. Yateem H, Afaneh I, Al-Rimawi F (2014) Optimum conditions for oleuropein extraction from olive leaves. *International Journal of Applied* 4:153–157
10. European Food Safety Authority (2008) Scientific opinion of the panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food. *The EFSA Journal* 721:1–29
11. Yara-Varon E, Fabiano-Tixier AS, Balcells M, Canela-Garayoa R, Bily A, Chemat F (2016) Is it possible to substitute hexane with green solvents for extraction of carotenoids? A theoretical versus experimental solubility study. *RSC Advances* 6:27750–27759
12. Strati IF, Oreopoulou V (2011) Process optimisation for recovery of carotenoids from tomato waste. *Food Chemistry* 129:747–752

- 
13. Morrison WR, Smith LM (1964) Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J Lipid Res* 5:600–608
  14. Jacotet-Navarro M, Rombaut N, Fabiano-Tixier A-S, Danguien M, Bily A, Chemat F (2015) Ultrasound versus microwave as green processes for extraction of rosmarinic, carnosic and ursolic acids from rosemary. *Ultrasonics Sonochemistry* 27:102–109



## Chapitre IV - *n*-butane as an alternative to *n*-hexane for extraction of lipophilic compounds

Rapinel, V., Rombaut, N., Rakotomanomana, N., Vallageas, A., Cravotto, G. & Chemat, F. (2017). An original approach for lipophilic natural products extraction: Use of liquefied *n*-butane as alternative solvent to *n*-hexane. *LWT - Food Science and Technology*, 85(B), 524–533.

## IV.1. Introduction

Among the pool of organic solvents, hexane is certainly the most well-established industrial solvent for extraction of lipophilic natural products such as aromas, carotenoids, and vegetable oils [1–3]. The wide use of hexane is due to its physico-chemical parameters e.g. low boiling point, low polarity, and chemical stability [4]. However, residual content in raw material, non-total recovery of hexane observed in industrial processes, growing environmental and health concerns are major constraints [5]. Indeed, hexane is categorized as reprotoxic category 2 and as aquatic chronic toxic category 2 substance [6] and is ranked on the list of substances prohibited in cosmetic products in the European Union (Regulation EC 1223/2009).

Scientific community and industrials are challenged to identify alternative solvents to hexane. This trend has stimulated researches on alternative solvents, most of which are produced from renewable resources such as woods, cereals, seeds, oils, fats [7, 8]. As examples, studies have been performed regarding the extraction of rapeseed oils using MeTHF [9], caraway seeds aromas using  $\alpha$ -pinene [10] and extraction of rice bran oil using limonene [11]. Such solvents have a good solvation power, are non-toxic and biodegradable [12]. The main drawbacks of these solvents are their cost (MeTHF: 5€/kg [9]), their relative high viscosity (d-limonene =  $9.0 \times 10^{-4}$  Pa.s at 25 °C ;  $\alpha$ -pinene =  $1.3 \times 10^{-3}$  Pa.s at 25 °C [13]), their high boiling point (d-limonene = 175.5 °C at 101.3 kPa [1];  $\alpha$ -pinene = 158 °C at 101.3 kPa [10]) and the possible generation of off-flavors [10].

In the last decades, research for new solvents has revived the interest for the use of liquefied gases as extraction solvents. Many studies have been performed on natural product extraction using supercritical CO<sub>2</sub>, but the high working pressure (7.5 to 45 MPa) has limited the industrial applications [14–21]. More recently, some studies have been focused on extraction processes involving liquefied gases at lower pressure (200 to 1000 kPa), such as propane [22–24], *n*-butane [25, 26], dimethyl ether [27–29], tetrafluoropropene [30], tetrafluoroethane [31, 32], eventually with co-solvents [33, 34]. All these studies describe a dynamic process with continuous solvent recirculation using pumps and/or compressors which are prone to cavitation issues [35, 36]. Alternatively, a new process has been recently proposed which does not require the use of pumps and compressors. The unit designed has the specificity to rely on gravity for the liquefied gases circulation in the equipment. Consecutively, energy consumption is reduced compared to other liquefied gases processes using pumps and compressors. Extraction is enabled by liquefied gas contacting with a raw material inside an extractor during a set time. Then the mixture of liquefied solvent and extract is separated in an evaporator,

allowing the liquefied gas to turn in a gaseous state. Therefore, no traces of the solvent remain in the extract.

In this paper, the applicability of this newly developed process has been investigated using *n*-butane for extraction of lipophilic compounds such as oleoresin, essential oil and vegetable oil. The choice of *n*-butane as alternative solvent to *n*-hexane was motivated by its close chemical structure, its gentle vapor pressure, its low price and its classification as authorized solvent for foodstuff production without limitation (Directive 2009/32/EC).

The potential of liquefied *n*-butane for extraction of lipophilic compounds will be compared to the conventional solvent *n*-hexane through two approaches: a theoretical approach with a predictive computational model, COSMO-RS (COnductor like Screening MOdel for Real Solvents), coupled with lab-scale trials. Three plants material traditionally extracted with *n*-hexane were chosen for the comparative study: carrots (*Daucus carota* L.) for the extraction of high-value products i.e. carotenoids, caraway seeds (*Carum carvi* L.) for the extraction of volatile aromatic compounds and sunflower seeds (*Helianthus annuus* L.) for the extraction of fats and oils. The extracts will be analyzed quantitatively (extraction yield) and qualitatively (GC, HPLC) in order to compare the efficiency of *n*-butane *versus n*-hexane for the extraction of lipophilic natural products.

## IV.2. Materials and methods

### IV.2.1. Materials

For extraction, *n*-hexane analytical grade (VWR International, Radnor, USA) and *n*-butane, 95% purity without mercaptan (Inventec Performance Chemical, St Priest, France) were used in this study. Dried carrots and sunflower seeds were purchased in 2015 from Herbier du Diois (Châtillon-en-Diois, France). Caraway seed powder was purchased from L'île aux épices (Port-Vendres, France). Reagents and standards are presented in detail in Chapter III.

The plant materials were prepared following the same procedures for both *n*-butane and *n*-hexane extractions. Dried carrot cubes and sunflower seeds were ground into a fine powder using a grinder (Kinematica AG Microtron MB 550, Luzern, Switzerland; grinding duration = 15 s) just before extraction. Caraway seed powder was used directly as is.

### IV.2.1. Extraction and analytical methods

Carrots, sunflower seeds and caraway seeds extracts obtained with *n*-butane and *n*-hexane were extracted and analyzed using procedures described in Chapter III.

### IV.2.2. *n*-butane as alternative solvent to *n*-hexane: properties comparison

In order to determine if *n*-butane can be an alternative to *n*-hexane, in a first part a comparison of technical properties was made. In a second part, the solubility of target lipophilic compounds in both *n*-butane and *n*-hexane was assessed by COSMO-RS simulation.

Table IV. 1 reports physicochemical properties of *n*-butane and *n*-hexane. Data was obtained from ACD-labs and from Air Liquide gas encyclopedia. The energy of evaporation for 1 kg of solvent at 25 °C was calculated using the specific heat, the latent heat of vaporization and the boiling point.

Both *n*-butane and *n*-hexane have a similar lipophilic behavior, with close solubility in water (0.05 kg/m<sup>3</sup> and 0.06 kg/m<sup>3</sup> at 25 °C), log P value (2.9 and 3.9) and density (570 and 650 kg/m<sup>3</sup>). The comparison of boiling points (bp) and flash points (fp) shows that *n*-butane is logically much more volatile than *n*-hexane (bp = -0.5 °C, fp = -60 °C and bp = 68.5 °C, fp = -23 °C respectively). *n*-butane also has a lower viscosity (1.6 x 10<sup>-4</sup> Pa.s vs. 3.2 x 10<sup>-4</sup> Pa.s). Comparison of evaporation energies shows that *n*-butane has a slightly better score than *n*-hexane, with 0.11 kWh and 0.12 kWh respectively (source: ACD labs). This small difference has a direct impact on the energy consumption regarding the equivalent CO<sub>2</sub> with respectively 88 g<sub>CO2</sub> and 96 g<sub>CO2</sub>. These calculations have been made according to the literature: to obtain 1 kWh from coal or fuel, 800 g of CO<sub>2</sub> will be emitted during combustion of fossil fuel [37].

In conclusion, the two solvents have very close technical properties and due to safety and energetic considerations, *n*-butane could be an alternative to *n*-hexane as extraction solvent.

Table IV. 1 - Comparison of technical properties of *n*-hexane and *n*-butane (Sources: ACD-Labs / Air liquide)

Properties	Unit	<i>n</i> -hexane	<i>n</i> -butane
Molecular weight	[g/mol]	86.2	58.1
Density (25 °C)	[kg/m <sup>3</sup> ]	650	570
Viscosity (25 °C)	[Pa.s]	3.2 10 <sup>-4</sup>	1.6 10 <sup>-4</sup>
Boiling Point (101.3 kPa)	[°C]	68.5	-0.5
Latent heat of vaporization	[kJ/kg]	334	386
Specific heat	[kJ/kg.°C]	2.23	2.4
Evaporation energy per kg of solvent (101.3 kPa)	[kW.h]	0.12	0.11
Equivalent CO <sub>2</sub> (1 kW.h = 800 g of CO <sub>2</sub> )	[g]	96	88
Solubility in water (25 °C)	[kg/m <sup>3</sup> ]	0.05	0.06
log P		3.9	2.9
Flash point	[°C]	-23	-60

Auto-ignition temperature	[°C]	225	287
CMR* classification		2	/

\* Carcinogenic, Mutagenic and or toxic to Reproduction

### IV.3. Results and discussion

#### IV.3.1. Evaluation of target compound solubility in *n*-butane and in *n*-hexane

A COSMO-RS simulation was performed to determine the relative solubility in *n*-hexane and *n*-butane of several components from caraway seeds (carvone, limonene), from sunflower seeds (triacylglycerols (TAGs): TAG1 [R1 : C18:3n-3, R2 : C18:2n-6, R3 : C18:2n-6]; TAG2 [R1 : C18:1n-9, R2 : C18:1n-9, R3 : C18:2n-6]; TAG3 [R1 : C18:1n-9, R2 : C18:1n-9, R3 : C18:1n-9]; TAG4 [R1 : C18:1n-9, R2 : C18:2n-6, R3 : C18:2n-6]) and from carrots ( $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene, lutein, lycopene).

Table IV. 2 reports the solubility results, expressed in logarithm of the solubility in mole fractions,  $\log(x_{\text{solub}})$ . As a reminder the simulations were performed at room temperature (25 °C) considering that both solutes and solvents were in a liquid state. According to the rule “like dissolve like”, *n*-butane and *n*-hexane, respectively a C4 and C6 *n*-alkane, should have nearly the same solubilization power towards each molecule. As expected, they showed very similar solubilization power (i.e.  $\log(x_{\text{solub}}) > -0.1$ ) for apolar solutes like carotenes, TAGs and limonene. Similarly, both poorer solubilization (i.e.  $\log(x_{\text{solub}}) < -0.5$ ) for more polar solutes such as carvone and lutein.

Table IV. 2 - COSMO-RS: relative solubility  $\log(x_{\text{solub}})$  of solutes in *n*-hexane and *n*-butane at 25 °C.

Matrix	Solute	<i>n</i> -butane	<i>n</i> -hexane
<i>Sunflower seed</i>	TAG 1	-0.64	-0.10
	TAG 2	0	0
	TAG 3	0	0
	TAG 4	0	0
<i>Caraway seed</i>	d-carvone	-0.61	-0.57
	d-limonene	-0.08	-0.03
<i>Carrots chips</i>	$\alpha$ -carotene	-0.03	0
	$\beta$ -carotene	-0.04	0
	Lutein	-2.30	-1.96
	Lycopene	-0.27	0

Grey = Reference solvent; Green = equivalent or better than reference ( $\log(x_{\text{solub}}) = 0$ ); Yellow = Equivalent or slightly worse than reference ( $\log(x_{\text{solub}}) > -1$ ); Red = worse than reference ( $\log(x_{\text{solub}}) < -1$ )

It can be concluded that the COSMO-RS simulation suggests that *n*-butane is a good potential candidate for the substitution of *n*-hexane, with a very close polarity and an almost identical probability of solubilization.

### IV.3.2. Experimental study

Liquefied gas extraction using this new process is new to literature. In this section, the extraction performances of liquefied *n*-butane were compared to *n*-hexane for carotenoids from carrots, caraway essential oil and sunflower oil.

#### IV.3.2.1. Qualitative and quantitative comparison of extracts from sunflower seeds

Extraction yields and fatty acid distribution in sunflower oils obtained with *n*-butane (at 20 °C, 30 °C and 40 °C) and *n*-hexane are compared in Table IV. 3. The use of *n*-butane enabled to reach an average oil yield of 36.7%. Increasing extraction temperature from 20 °C to 40 °C did not impact oil extraction, as observed by Nimet *et al.* [38]. The lack of influence of temperature on the extraction yield tends to indicate that in this extraction, the limiting factor is not the internal transport but the mass transfer of oil into the bulk phase. This limitation could be overcome by adding a stirrer to homogenize the mixture and facilitate solvent contacting with the raw material. Extraction performed with *n*-hexane results in higher yields than with *n*-butane (53%) probably due to the higher temperature for *n*-hexane extraction (20 °C to 40 °C for *n*-butane and 68 °C for *n*-hexane).

Extracted sunflower oils from both solvents are composed of 55 to 57 g/100 g of poly-unsaturated fatty acids, 35 to 36 g/100 g of mono-unsaturated fatty acids and 10 g/100 g of saturated fatty acids. Fatty acids distributions are similar for both studied solvents. It is also interesting to notice that the temperature range (from 20 °C for *n*-butane to 68 °C for *n*-hexane) does not impact on fatty acid distribution, as observed by Nimet *et al.* [38]. Sunflower oils can be extracted by *n*-butane with an equal fatty acid composition compared to *n*-hexane, even at low temperatures (20 °C).

Table IV. 3 - Extraction yield and fatty acid composition of sunflower oil extracted with *n*-hexane and *n*-butane.

Fatty acids	Pressure	<i>n</i> -butane			<i>n</i> -hexane
		200 kPa	280 kPa	370 kPa	atm.
	Temperature	20 °C	30 °C	40 °C	Bp (68 °C)
unit : g/100 g					
C16		5.8	5.9	5.8	5.9
C16: 1 n-7		0.1	0.1	0.1	0.1
C18		2.6	2.6	2.7	2.6

<b>C18: 1 n-9</b>	29.9	29.7	30.4	29.4
<b>C18: 2 n-6</b>	55.8	56.3	55.1	56.7
<b>C18: 3 n-3</b>	0.4	0.4	0.4	0.4
<b>C20</b>	0.2	0.2	0.2	0.2
<b>C22</b>	1.8	1.6	1.8	1.6
<b>Σ SFAs</b>	10.4	10.3	10.5	10.3
<b>Σ MUFAs</b>	35.8	35.7	36.4	35.4
<b>Σ PUFAs</b>	56.2	56.7	55.4	57.1
<b>Pooled SD</b>	0.3	0.2	0.3	0.3
<b>Extraction yield (%)</b>	36.6 ± 0.6	36.7 ± 1.0	36.9 ± 0.4	53.4 ± 0.4

#### IV.3.2.2. Qualitative and quantitative comparison of extracts from caraway seeds

Comparison of caraway seeds extract in terms of yield and composition is reported in Table IV. 4. Extraction yield using *n*-butane is dependent on temperature: an increase of 6.5% to 10.9% could be noted by increasing extraction temperature from 20 °C to 40 °C. The highest extraction yield was reached for *n*-hexane (15% at 68 °C). Caraway seeds contain up to 6 g/100 g of essential oil and a higher amount of fatty acids (up to 8 g/100 g) [39, 40]. Given the extraction yields obtained, the extract is most probably a mixture of essential oil and fatty acids.

Table IV. 4 - Extraction yield and the relative abundance of carvone and limonene in each extract.

Solvent	T (°C)	P (kPa)	Time (h)	Extraction yield (%)	Ratio [carvone] / [limonene] (g/100 g)	
					carvone	limonene
<i>n</i> -butane	20	200	2	6.5 ± 0.8	89.4 ± 4.8	10.6 ± 2.3
<i>n</i> -butane	30	380	2	8.4 ± 0.6	90.7 ± 2.3	9.3 ± 1.7
<i>n</i> -butane	40	470	2	10.9 ± 0.2	91.8 ± 3.2	8.2 ± 1.4
<i>n</i> -hexane	Bp	atm.	2	15.0 ± 0.7	70.5 ± 3.0	29.6 ± 2.4

In caraway, the main terpenes in essential oil are d-carvone and d-limonene (95 g/100 g of terpenes compounds) [10]. It could be noted from our results that the proportion of carvone over limonene is quite high (over 70 g/100 g). These results have also been obtained by other authors [40, 41]. Authors show that the carvone/limonene ratio varies according to drought [40], to caraway variety [41], or according to the stage of development of caraway, where carvone seem to be accumulating over limonene at the later stages [42].

As an oxygenated compound, the polarity of carvone is higher than limonene's which is a hydrocarbon. However, extracts using *n*-butane or *n*-hexane showed a higher proportion of carvone (70.5 to 91.8 g/100 g) than limonene (8.2 to 10.6 g/100 g). For *n*-butane, the proportion of carvone tends to increase with temperature (from 89.4 to 91.8 g/100 g with increasing temperatures from 20 °C to 40 °C). For *n*-hexane extract, a difference in range of proportions was noticed, as a higher amount of limonene was detected (29.6 g/100 g against 8.2 to 10.6 g/100 g for *n*-butane extracts). Surprisingly, *n*-butane seemed to be more selective towards carvone than *n*-hexane.

#### IV.3.2.3. Qualitative and quantitative comparison of extracts from dried carrots

Comparison of carotenoid yields obtained in liquefied *n*-butane show a positive impact of temperature with an increase from 14.8% to 25.7% at 20 °C and 40 °C respectively (Table IV. 5). However, a higher yield was obtained for the reference in *n*-hexane with 55.8%. This difference can probably be explained by the higher temperature during *n*-hexane extraction.

Table IV. 5 - Extraction yield and composition of carrot oleoresin obtained with *n*-hexane and *n*-butane.

solvent	T (°C)	P (kPa)	time (h)	carotenoid yield (mg 100 g <sup>-1</sup> DM)	HPLC identified carotenoids (g/100 g)			
					α-carotene	β-carotene	lutein	lycopene
<i>n</i> -butane	20	200	2	14.8 ± 1.5	35.2 ± 0.1	64.8 ± 0.3	tr.	tr.
<i>n</i> -butane	30	380	2	23.1 ± 3.8	35.2 ± 0.1	64.8 ± 0.2	tr.	tr.
<i>n</i> -butane	40	470	2	25.7 ± 3.6	35.2 ± 0.2	64.8 ± 0.3	tr.	tr.
<i>n</i> -hexane <sup>a</sup>	68	atm.	1	55.8 ± 7.6	36.0 ± 1.6	64.0 ± 1.2	tr.	tr.

tr., traces; DM, dry matter

Extracts composition obtained with both *n*-butane and *n*-hexane were very similar with a proportion of α-carotene comprised between 35.2 and 36 g/100 g respectively and a proportion of β-carotene comprised between 64.8 and 64 g/100 g respectively. Those compositions are in accordance with previous results [43]. Neither lycopene nor lutein was detected in quantifiable amount. This observation can be explained by the low fraction of lutein in carrots carotenoids (1 to 5 g/100 g) [44] and by the low solubility of lycopene in apolar solvents, due to its relative high polarity. These results suggest an equal carotenoid composition in the raw material and that liquefied *n*-butane allowed extraction of a fraction of it.

Overall, these experimental data show that the developed process with the use *n*-butane is suitable for extraction of lipophilic compounds. Extraction could be achieved even at low temperatures (20 °C) for *n*-butane and with extraction yields increasing with temperatures (up to 40 °C). It could also be



noticed that an equal extract composition was obtained with *n*-butane compared to *n*-hexane, except for caraway extracts, where a higher proportion of carvone upon limonene was obtained (80 to 90 g/100 g of carvone for *n*-butane extracts and 70 g/100 g of carvone for *n*-hexane extract). However, higher mass extraction yields were systematically obtained with *n*-hexane. This gap could be reduced by acting on different process parameters such as temperature and addition of a stirring device to enhance plant material-liquefied gas contacting. Kinetic limitation due to a slow mass transfer has been reported for compressed fluid processes such as supercritical CO<sub>2</sub> even if the continuous circulation of CO<sub>2</sub> throughout the matrix generates a constant solvent renewal around the matrix particles [45].

Experimental data and COSMO-RS simulation are well correlated for sunflower oil and carotenoids from carrots. It could be identified that only traces of lutein and lycopene were detected in carrot extracts (obtained with neither *n*-hexane nor *n*-butane), which could be justified by the low amount in our carrot sample. An inverse tendency in experimental data compared to simulation data was identified for carvone. A higher proportion of carvone over limonene was determined in all extracts.

#### IV.4. Safety considerations

Liquefied gas extraction process is simple and can be readily understood in terms of the operating steps to be performed. However, the use of *n*-butane as liquefied gas can pose serious hazards in inexperienced hands (extremely flammable vapors). A high level of safety and attention to details when planning and performing experiments must be used by all the persons. They have to ensure that they seek proper information from knowledgeable sources and that they do not attempt to use this gas unless proper guidance is provided. Only approved equipment in dedicated laboratory or technological hall, with no ignition sources around and proper ventilation (such as ATEX in Europe or HAZLOC in North America), should be used. The same precautions must be taken for *n*-butane storage.

#### IV.5. Conclusion

A new process developed for liquefied gases extraction was evaluated. In terms of application, the process was assessed using *n*-butane for lipophilic natural products extraction. Several technical properties of *n*-butane have been found interesting for extraction processes: chemically inert, easy to evaporate, non-toxic, cheap, commercially available and authorized without limitation for foodstuff production. A COSMO-RS theoretical study confirmed that *n*-butane has a similar solubilization potential to *n*-hexane. The performances of *n*-butane were compared to *n*-hexane for the solid-liquid extraction of three different classes of solutes: aromas, oils and carotenoids. These simulations were

confirmed by lab-scale extractions on caraway seeds, sunflower seeds and carrots. The extraction yields obtained with *n*-butane were lower than *n*-hexane, most probably because of a slow mass transfer inside the solvent due to the lack of stirring. The promising results indicate that *n*-butane can be a non-toxic alternative to *n*-hexane extractions, paving the way to other liquefied gases for extraction.

## IV.6. References

1. Chemat-Djenni Z, Ferhat MA, Tomao V, Chemat F (2010) Carotenoid extraction from tomato using a green solvent resulting from orange processing waste. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 13:139–147
2. Filly A, Fabiano-Tixier A-S, Lemasson Y, Roy C, Fernandez X, Chemat F (2014) Extraction of aroma compounds in blackcurrant buds by alternative solvents: theoretical and experimental solubility study. *Comptes Rendus Chimie* 17:1268–1275
3. Virot M, Tomao V, Ginies C, Chemat F (2008) Total lipid extraction of food using d-limonene as an alternative to n-hexane. *Chromatographia* 68:311–313
4. Johnson LA, Lusas EW (1983) Comparison of alternative solvents for oils extraction. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 60:229–242
5. Mikkelsen SH, Miljøstyrelsen D (2014) Survey of n-hexane. Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency
6. Sicaire A-G, Vian M, Fine F, Carre P, Tostain S, Chemat F (2015) Experimental approach versus COSMO-RS assisted solvent screening for predicting the solubility of rapeseed oil. *OCL* 22:1–7
7. Chemat F, Vian M (2014) Alternative solvents for natural products extraction. In: Vian M (ed). Springer, Berlin, pp 205–219
8. Ishida BK, Chapman MH (2009) Carotenoid extraction from plants using a novel, environmentally friendly solvent. *J Agric Food Chem* 57:1051–1059
9. Sicaire A-G, Vian M, Fine F, Joffre F, Carre P, Tostain S, Chemat F (2015) Alternative bio-based solvents for extraction of fat and oils: solubility prediction, global yield, extraction kinetics, chemical composition and cost of manufacturing. *International journal of molecular sciences* 16:8430–8453
10. Filly A, Fabiano-Tixier AS, Fernandez X, Chemat F (2015) Alternative solvents for extraction of food aromas. Experimental and COSMO-RS study. *LWT - Food Science and Technology* 61:33–40
11. Mamidipally PK, Liu SX (2004) First approach on rice bran oil extraction using limonene. *European Journal of Lipid Science and Technology* 106:122–125
12. Chemat F (2011) Les agrosolvants en extraction. In: *Eco-extraction du végétal : Procédés innovants et solvants alternatifs*. Dunod, Paris, pp 169–197

13. Clará RA, Marigliano ACG, Sólamo HN (2009) Density, Viscosity, and Refractive Index in the Range (283.15 to 353.15) K and Vapor Pressure of  $\alpha$ -Pinene, d-Limonene, ( $\pm$ )-Linalool, and Citral Over the Pressure Range 1.0 kPa Atmospheric Pressure. *J Chem Eng Data* 54:1087–1090
14. Baysal T, Ersus S, Starmans DAJ (2000) Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of  $\beta$ -carotene and lycopene from tomato paste waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:5507–5511
15. Ben Rahal N, Barba FJ, Barth D, Chevalot I (2015) Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of oil, fatty acids and flavonolignans from milk thistle seeds: evaluation of their antioxidant and cytotoxic activities in Caco-2 cells. *Food and Chemical Toxicology* 83:275–282
16. Coelho JP, Cristino AF, Matos PG, Rauter AP, Nobre BP, Mendes RL, Barroso JG, Mainar A, Urieta JS, Fareleira JM, Sovova H, Palavra AF (2012) Extraction of volatile oil from aromatic plants with supercritical carbon dioxide: experiments and modeling. *Molecules* 17:10550–10573
17. Couto RM, Simões PC, Reis A, Da Silva TL, Martins VH, Sánchez-Vicente Y (2010) Supercritical fluid extraction of lipids from the heterotrophic microalga *Cryptocodinium cohnii*. *Engineering in Life Sciences* 10:158–164
18. Hubert P, Vitzthum OG (1978) Fluid extraction of hops, spices, and tobacco with supercritical gases. *Angewandte Chemie International Edition in English* 17:710–715
19. Koubaa M, Barba FJ, Mhemdi H, Grimi N, Koubaa W, Vorobiev E (2015) Gas assisted mechanical expression (GAME) as a promising technology for oil and phenolic compound recovery from tiger nuts. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 32:172–180
20. Koubaa M, Mhemdi H, Barba FJ, Angelotti A, Bouaziz F, Chaabouni SE, Vorobiev E (2017) Seed oil extraction from red prickly pear using hexane and supercritical CO<sub>2</sub>: assessment of phenolic compound composition, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 97:613–620
21. Xu L, Zhan X, Zeng Z, Chen R, Li H, Xie T, Wang S (2011) Recent advances on supercritical fluid extraction of essential oils. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 5(9):1196–1211
22. da Silva CM, Zanqui AB, Gohara AK, de Souza AHP, Cardozo-Filho L, Visentainer JV, Rovigatti Chiavelli LU, Bittencourt PRS, da Silva EA, Matsushita M (2015) Compressed n-propane extraction of lipids and bioactive compounds from Perilla (*Perilla frutescens*). *The Journal of Supercritical Fluids* 102:1–8
23. Sekhon JK, Maness NO, Jones CL (2015) Effect of preprocessing and compressed propane extraction on quality of cilantro (*Coriandrum sativum* L.). *Food Chemistry* 175:322–328

24. Zanqui AB, de Morais DR, da Silva CM, Santos JM, Chiavelli LUR, Bittencourt PRS, Eberlin MN, Visentainer JV, Cardozo L, Matsushita M (2015) Subcritical extraction of *Salvia hispanica* L. oil with *n*-propane: composition, purity and oxidation stability as compared to the oils obtained by conventional solvent extraction methods. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 26:282–289
25. Novello Z, Scapinello J, Magro JD, Zin G, Luccio MD, Tres MV, Oliveira JV (2015) Extraction, chemical characterization and antioxidant activity of andiroba seeds oil obtained from pressurized *n*-butane. *Industrial Crops and Products* 76:697–701
26. Yang C, Teo KC, Xu YR (2004) Butane extraction of model organic pollutants from water. *Journal of Hazardous Materials* 108:77–83
27. Kanda H, Li P (2011) Simple extraction method of green crude from natural blue-green microalgae by dimethyl ether. *Fuel* 90:1264–1266
28. Kanda H, Makino H (2009) Clean up process for oil-polluted materials by using liquefied DME. *Journal of Environment and Engineering* 4:356–361
29. Oshita K, Toda S, Takaoka M, Kanda H, Fujimori T, Matsukawa K, Fujiwara T (2015) Solid fuel production from cattle manure by dewatering using liquefied dimethyl ether. *Fuel* 159:7–14
30. Suberu J, Yamin P, Cornell R, Sam A, Lapkin A (2016) Feasibility of using 2,3,3,3-tetrafluoropropene (R1234yf) as a solvent for solid-liquid extraction of biopharmaceuticals. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 4:2559–2568
31. Lapkin AA, Plucinski PK, Cutler M (2006) Comparative assessment of technologies for extraction of artemisinin. *Journal of Natural Products* 69:1653–1664
32. Mustapa AN, Manan ZA, Mohd Azizi CY, Nik Norulaini NA, Omar AKM (2009) Effects of parameters on yield for sub-critical R134a extraction of palm oil. *Journal of Food Engineering* 95:606–616
33. Jesus AA, Almeida LC, Silva EA, Filho LC, Egues SMS, Franceschi E, Fortuny M, Santos AF, Araujo J, Sousa EMBD, Dariva C (2013) Extraction of palm oil using propane, ethanol and its mixtures as compressed solvent. *The Journal of Supercritical Fluids* 81:245–253
34. Pessoa AS, Podestá R, Block JM, Franceschi E, Dariva C, Lanza M (2015) Extraction of pequi (*Caryocar coriaceum*) pulp oil using subcritical propane: Determination of process yield and fatty acid profile. *The Journal of Supercritical Fluids* 101:95–103
35. Brennen C (1995) *Cavitation and bubble dynamics*. Oxford University Press, Oxford

36. Franc J-P, Michel J-M (2005) Fundamentals of cavitation. In: Franc J-P, Michel J-M (eds) Fluid Mechanics and Its Applications. Kluwer Academic Publishers, London, pp 265–285
37. Farhat A, Fabiano-Tixier A-S, Maataoui ME, Maingonnat J-F, Romdhane M, Chemat F (2011) Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: kinetic data, extract's global yield and mechanism. *Food Chemistry* 125:255–261
38. Nimet G, da Silva EA, Palú F, Dariva C, Freitas L dos S, Neto AM, Filho LC (2011) Extraction of sunflower (*Heliantus annuus* L.) oil with supercritical CO<sub>2</sub> and subcritical propane: experimental and modeling. *Chemical Engineering Journal* 168:262–268
39. Bailer J, Aichinger T, Hackl G, de Hueber K, Dachler M (2001) Essential oil content and composition in commercially available dill cultivars in comparison to caraway. *Industrial Crops and Products* 14:229–239
40. Laribi B, Kouki K, Bettaieb T, Mougou A, Marzouk B (1) Essential oils and fatty acids composition of tunisian, german and egyptian caraway (*Carum carvi* L.) seed ecotypes: a comparative study. *Industrial Crops and Products* 41:312–318
41. Sedláková J, Kocourková B, Lojtková L, Kuban V (2003) Determination of essential oil content in caraway (*Carum carvi* L.) species by means of supercritical fluid extraction. *Plant Soil and Environment* 49:277–282
42. Bouwmeester HJ, Gershenzon J, Konings MC, Croteau R (1998) Biosynthesis of the monoterpenes limonene and carvone in the fruit of caraway I. Demonstration of enzyme activities and their changes with development. *Plant Physiology* 117:901–912
43. Yara-Varon E, Fabiano-Tixier AS, Balcells M, Canela-Garayoa R, Bily A, Chemat F (2016) Is it possible to substitute hexane with green solvents for extraction of carotenoids? A theoretical versus experimental solubility study. *RSC Advances* 6:27750–27759
44. Amosova AS, Ivakhnov AD, Skrebets TE, Ulyanovskiy NV, Bogolitsyn KG (2015) Supercritical fluid extraction of carotenoids from shantane carrot. *Russian Journal of Physical Chemistry B* 8:963–966
45. Hasan N, Farouk B (2013) Mass transfer enhancement in supercritical fluid extraction by acoustic waves. *The Journal of Supercritical Fluids* 80:60–70

### **Regulations**

Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products. OJ L 342, 22.12.2009, p. 59–20.

Directive 2009/32/EC of the European Parliament and of the Council of 23 April 2009 on the approximation of the laws of the Member States on extraction solvents used in the production of foodstuffs and food ingredients (amended by directives 2010/59/EU and 2016/1855/EU). OJ L 141, 6.6.2009, p. 3–11.

Directive 2014/68/EU of the European Parliament and of the Council of 15 May 2014 on the harmonization of the laws of the Member States relating to the making available on the market of pressure equipment. OJ L 189, 27.6.2014, p. 164-259

Directive 2014/34/EU of the European Parliament and of the Council of 26 February 2014 on the harmonization of the laws of the Member States relating to equipment and protective systems intended for use in potentially explosive atmospheres. OJ L 96, 29.3.2014, p. 309-356.

# Chapitre V – HFO-1234ze as safe liquefied gas for extraction of natural products

Rapinel, V., Breil, C., Makerri, C., Jacotet-Navarro, M., Rakotomanomana, N., Vallageas, A. & Chemat, F. (2017). Feasibility of using liquefied gas HFO-1234ze (1,3,3,3-tetrafluoroprop-1-ene) as an alternative to conventional solvents for solid–liquid extraction of food ingredients and natural products. *LWT - Food Science and Technology*, 83(1), 225–234.



## V.1. Introduction

A solvent can be defined as “a liquid that has the property to dissolve, dilute or extract other materials without causing chemical modification of these substances or itself. The solvents are able to implement, apply, clean or separate products” [1]. Conventional organic solvents such as hexane, methanol, acetone or dichloromethane are usually used in solid-liquid extractions. As an example, the global market size, for hexane as solvent, was estimated at 1.75 billion dollars in 2015, and extraction consumes about 35% of the global volume [2]. Petroleum solvents are very efficient to dissolve a wide range of natural ingredients and are easily eliminated by evaporation at the end of the process. Unfortunately most of these organic solvents are known to be highly flammable and also toxic for human and environment [3]. Faced to the tightening of legislation, industrials are forced to find efficient, safer and greener solvents.

Solvent substitution process is a complex approach, which must consider various aspects. Ideally the “perfect” alternative solvent must have several advantages: no toxicity for human and environment, non-flammable, no emission of volatile organic compounds, low cost, bio-sourced completely or partially, high solvation power, low viscosity, and easy to evaporate [4]. However, replacing hazardous solvents by available green solvents does not always mean eliminating all the hazards and issues. In fact, in most of case the modification of a process is associated with new risks and hazards.

This search for alternative solvents has revived the interest for liquefied gases, i.e. gases used in liquid state, as extraction solvents (Liquefied Gas Extraction – LGE). Recently, many studies showed that several liquefied gases, such as *n*-butane [5–8], *n*-propane [9–11], dimethyl ether [12–14], , could be used as new alternative solvents for the extraction of natural products, however their use is still limited by their flammability (alkanes, ethers...). Only few fluorinated liquefied gases are not flammables, in particular 1,1,1,2-tetrafluoroethane, also known as TFE or R134a [15–17] but unfortunately, its use will be progressively phased out due to its impact on the greenhouse effect [18]. As R134a is still widely used as refrigerant gas, refrigeration industrial intensively searched for a greener alternative.

Their research resulted in the commercialization of two new fluorinated gases, named 2,3,3,3-tetrafluoropropene (HFO-1234yf) and 1,3,3,3-tetrafluoropropene (HFO-1234ze). HFOs (HydroFluoro-Olefins) are 4th generation refrigerants, non-toxic and non-flammable, without impact on the ozone layer (Ozone depletion potential = 0) and only little greenhouse effect (Global warming potential = 4 and 6 respectively) due to a short atmospheric lifetime [19]. Eventually, studies on the degradation of HFOs [20, 21] showed that tetrafluoropropenes are likely to be degraded into HF and CF<sub>3</sub>COOH but based on the current hydrofluorocarbons emissions, the authors calculated that the amounts of

degradation products will not be sufficient to generate any environmental impacts, even for the most sensitive aquatic organisms.

HFOs were initially developed for refrigerant purpose, but their interesting properties make them suitable for LGE. In 2016, a promising research has been achieved by Suberu *et al.* [18] on the extraction of artemisinin, an antimalarial substance, using HFO-1234yf as alternative to R134a. However, HFO-1234yf is much more expensive than HFO-1234ze - about 100€/kg vs. 15€/kg (price for 1 ton in 2016, Inventec Performance Chemicals, St Priest, France) – whereas preliminary in-silico solubility predictions have not revealed any significant differences of solvation between both HFOs. For these reasons, HFO-1234ze was preferred as extraction solvent in this study instead of HFO-1234yf.

In this paper, the feasibility of using liquefied HFO-1234ze as solvent for extracting compounds of different polarities will be compared to conventional solvents through two approaches: a theoretical approach with predictive computational tools, HSP (Hansen Solubility Parameters) and COSMO-RS (COnductor like Screening MOdel for Real Solvents), coupled with lab-scale experimentations. Four plant materials were chosen for the comparative study: rapeseeds (*Brassica napus* L.) for the extraction of fats and oils, carrots (*Daucus carota* L.) for the extraction of high-value products i.e.  $\alpha$  and  $\beta$ -carotene, olive leaves (*Olea europaea*) for the extraction of polyphenols such as oleuropein and tyrosol, rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis* L.) for the extraction of polyphenols such as rosmarinic acid and carnosic acid. The extracts have been analyzed quantitatively (extraction yield) and qualitatively (GC, HPLC and HPTLC) in order to compare the efficiency of HFO-1234ze regarding conventional solvents (*n*-hexane, ethanol, acetone) for the extraction of natural products.

## V.2. Materials and methods

### V.2.1. Materials

For laboratory-scale extractions, *n*-hexane analytical grade (VWR International, Radnor, USA), ethanol 96% purity (VWR International, Radnor, USA), acetone technical grade (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) and 1,3,3,3-Tetrafluoroprop-1-ene (HFO-1234ze) 99.5% purity (Inventec Performance Chemical, St Priest, France) were used in this study.

Dried carrots were purchased in 2015 from Herbier du Diois (Chatillon-en-Diois, France). Rapeseeds (Astrid breeding line; water content = 6.7%; oil content = 37 g/100 g) were provided by the Technical Institute for Oilseeds (Terres Inovia, Pessac, France). Wild olive leaves were collected nearby Avignon, France. Dried rosemary leaves were provided by Naturex (Avignon, France), collected in Morocco in 2013.

The plant materials were prepared using the following procedures: dried carrot cubes and olive leaves were ground into a fine powder using a grinder (Kinematica AG Microtron MB 550, Luzern, Switzerland; grinding duration = 15 s) just before extraction. Rapeseed were ground into powder using a grinder (Delonghi KG79, grinding level = medium) during 30 seconds, just before extraction. Dried rosemary leaves were used uncrushed, as most of the targeted compounds are located on the leaf surface [22].

### V.2.2. Extraction and analytical methods

Carrots, rapeseeds, olive and rosemary leaves extracts obtained with HFO-1234ze and reference solvents were extracted and analyzed using procedures described in Chapter III. Only one modification was made on the NECTACEL 1 extraction unit : a magnetic stirrer was added in the extractor in order to improve the mass transfer during maceration with HFO-1234ze, as a bad stirring was suspected to cause low extraction yields in the previous study.

### V.2.3. Physicochemical properties comparison

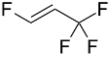
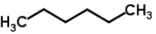



In order to determine if HFO-1234ze can be an alternative to conventional solvent, technical properties of each solvent were compared.

Table V. 1 reports physicochemical properties of liquefied HFO-1234ze, *n*-hexane, ethanol, acetone and water. Technical data was obtained from ACD-labs and from suppliers (Sigma-Aldrich, Inventec Performance Chemicals). The global energy of evaporation for 1 kg of liquid solvent was calculated using the equation (Eq. 7), considering the following initial state: pure incompressible liquid at 25 °C and 101 kPa for usual solvents, 570 kPa for HFO-1234ze.

$$E_{tot} = E_{heat}(T_0 \rightarrow T_b) + E_{vap} = \int_{T_0}^{T_b} C_{p_m} \cdot dT + \Delta H_{vap}(T_b) \quad (\text{Eq. 7})$$

Where  $E_{tot}$  (kJ/kg) is the energy required to evaporate 1 kg of solvent starting from  $T_0=25$  °C,  $E_{heat}$  (kJ/kg) is the energy required to heat up the solvent of 1 °C,  $E_{vap}$  (kJ/kg) is the energy required to vaporize 1 kg of liquid,  $C_{p_m}$  (kJ/kg.K) is the specific heat,  $T_b$  (°C) is the boiling point of the solvent in the process conditions of pressure and  $\Delta H_{vap}$  (kJ/kg) is the vaporization enthalpy at the boiling point.

Table V. 1 - Comparison of technical properties of extraction solvents

Properties	Unit	HFO-1234ze	<i>n</i> -hexane	Ethanol	Acetone	Water
Chemical structure						
Molecular formula		C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	H <sub>2</sub> O
Molecular weight	[g/mol]	114.04	86.18	46.07	58.08	18.02
Density (25 °C)	[kg/m <sup>3</sup> ]	1163	650	789	785	998
Viscosity (25 °C)	[mPa.s]	0.20	0.32	1.2	0.32	1.0
Boiling point (101.3 kPa)	[°C]	-18.9	68.5	78.3	56.2	100
Specific heat (25 °C)	[kJ/kg.°C]	1.386	2.23	2.43	2.18	4.18
Latent heat of vaporization	[kJ/kg]	162.9 <sup>a</sup>	334	843	500	2260
Energy to evaporate 1 kg from 25 °C	[kW.h]	0.05 <sup>a</sup>	0.12	0.27	0.16	0.71
Log P	/	1.26	3.9	-0.16	-0.19	n.a.
Solubility in water (25 °C)	[kg/m <sup>3</sup> ]	0.37	0.01	miscible	miscible	n.a.
Flash point	[°C]	n.a.	-23	13	-18	n.a.
ODP <sup>b</sup>	eq. CFC-11	0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
GWP <sub>100</sub> <sup>c</sup>	eq. CO <sub>2</sub>	6	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
<b><u>Hansen Solubility Parameters</u></b>						
δ <sub>d</sub>		13.9	14.9	15.8	15.4	15.5
δ <sub>p</sub>	[MPa <sup>½</sup> ]	3.3	0	8.8	10.4	16.0
δ <sub>h</sub>		2.8	0	19.4	7.0	42.3

<sup>a</sup> Value at 30 °C and 570 kPa ; <sup>b</sup> Ozone Depletion Potential ; <sup>c</sup> Global Warming Potential (100 years); n.a. = not applicable

### V.3. Results and discussion

#### V.3.1. HFO-1234ze as alternative solvent to usual solvents: properties comparison

As shown in Table V. 1, liquefied HFO-1234ze has very particular properties compared to usual organics solvents such as *n*-hexane, ethanol and acetone. As most halogenated solvents, HFO-1234ze has a higher density (1163 kg/m<sup>3</sup>) compared to *n*-hexane or acetone (650 and 785 kg/m<sup>3</sup> respectively). As most liquefied gases, HFO-1234ze also has a very low viscosity (0.20 mPa.s), lower than acetone and

*n*-hexane (0.32 mPa.s) and even six times lower than ethanol (1.2 mPa.s). Its low viscosity facilitates the flow of solvent inside particles of plant material and thus enhances the internal mass transfer [23]. Hansen solubility parameters and log P values show that HFO-1234ze can be defined as slightly apolar (log P = 1.26), compared with lipophilic solvents such as *n*-hexane (log P = 3.9) or with more hydrophilic solvents such as acetone (log P = -0.19) or ethanol (log P = -0.16). The most significant difference between HFO-1234ze and the other solvents is the amount of energy required to evaporate 1 kg of solvent from 25 °C: 0.05 kW.h for HFO-1234ze, 0.12 for *n*-hexane, 0.27 for ethanol, 0.16 for acetone and 0.71 for water. This lower energy consumption is a consequence of a low mass specific heat (0.2 kJ/kg.K at 25 °C) and latent heat of vaporization (162.9 kJ/kg at 30 °C and 570 kPa), due to higher molecular weight and lower Van Der Waals interactions. In the end the energy saving with HFO-1234ze using an isobaric process is about 60% compared to *n*-hexane, 80% compared to ethanol and 95% compared to water.

### V.3.2. Evaluation of target compounds solubility in HFO-1234ze vs. usual solvents using Hansen Solubility Parameters and COSMO-RS

Hansen solubility parameters (HSP) and COSMO-RS model were used as prediction tools for the evaluation of the ability of solvents to dissolve major components of several plant materials. In this paper, 4 representative triacylglycerols (TAG1 [R1 : C18:3n-3, R2 : C18:2n-6, R3 : C18:2n-6]; TAG2 [R1 : C18:1n-9, R2 : C18:1n-9, R3 : C18:2n-6]; TAG3 [R1 : C18:1n-9, R2 : C18:1n-9, R3 : C18:1n-9]; TAG4 [R1 : C18:1n-9, R2 : C18:2n-6, R3 : C18:2n-6]); 2 carotenoids ( $\alpha$ -carotene and  $\beta$ -carotene); 2 polyphenols (oleuropein and tyrosol) and 2 organic acids (carnosic acid and rosmarinic acid) were defined as target component of rapeseeds, carrots, olive leaves and rosemary leaves, respectively. Several solvents were selected for the simulations: HFO-1234ze as liquefied gas and usual solvents such as *n*-hexane, ethanol, acetone and water.

For Hansen parameters, the solubilization power of a solvent toward a solute is evaluated by the relative energy difference (RED) calculated by the software. Table V. 2 shows the RED values for the selected solvents with TAGs, carotenoids, polyphenols and organic acids. Solvents performances are compared relatively to the reference solvent (*n*-hexane, water/ethanol or acetone) as followed: solvent with a  $RED < RED_{ref} + 1$  are considered equivalent or better than the reference, solvents with  $RED_{ref} + 1 < RED < RED_{ref} + 3$  are considered equivalent or slightly worse than the reference and solvents with  $RED > RED_{ref} + 3$  are considered worse than the reference.

As can be seen for TAGs and carotenoids, *n*-hexane - set as reference solvent - has the lowest RED, respectively from 2.20 to 2.31 and from 2.61 to 2.67. As HFO-1234ze is less apolar than *n*-hexane, it showed equivalent or slightly lower RED, respectively from 2.61 to 2.84 and from 3.76 to 3.92.

Considering polyphenols (oleuropein and tyrosol), only a mixture ethanol/water (80:20, mass ratio) – set as reference solvent - obtained relatively low RED values, 2.92 and 4.89 respectively. Due to its low polarity, HFO-1234ze showed only low solubilization power toward this polar organic molecules (RED = 10.39 and 9.10).

Acetone – set as reference solvent – and ethanol showed relatively good RED for solubilization of carnosic organic acid. HFO-1234ze is only slightly worse than acetone (RED = 5.62 vs 4.45).

A mixture water/ethanol (70:30, mass ratio) was set as reference solvent for the extraction of rosmarinic acid [24], but it showed poor RED score (RED = 10.01) compared to pure ethanol and acetone (4.29 and 6.65 respectively). HFO-1234ze showed similar score with RED = 9.73.

Table V. 2 - The relative energy difference (RED) values for HSP.

Compounds	$\delta_D$	$\delta_P$	$\delta_H$	HFO-1234ze	<i>n</i> -hexane	Ethanol	Acetone	Water
<b>TAG 1</b>	16.4	1.8	3.0	2.61	2.31	8.94	4.83	20.91
<b>TAG 2</b>	16.6	1.7	2.5	2.82	2.27	9.20	5.02	21.17
<b>TAG 3</b>	16.6	1.6	2.3	2.84	2.20	9.31	5.11	21.28
<b>TAG 4</b>	16.5	1.7	2.7	2.72	2.26	9.10	4.95	21.08
<b><math>\alpha</math>-carotene</b>	17.4	0.0	1.5	3.92	2.61	10.10	6.18	21.99
<b><math>\beta</math>-carotene</b>	17.4	0.8	1.7	3.76	2.67	9.84	5.80	21.76
<b>Oleuropein</b>	17.2	13.1	19.9	10.39	12.13	2.92 <sup>a</sup>	6.81	11.42
<b>Tyrosol</b>	19.0	8.1	17.1	9.10	10.31	4.89 <sup>a</sup>	6.25	13.66
<b>Carnosic acid</b>	18.5	4.2	9.2	5.62	6.21	6.21	4.45	17.82
<b>Rosmarinic acid</b>	19.9	9.3	16.9	9.73	10.86	4.29	6.65	10.01 <sup>b</sup>

Grey = Reference solvent; Green = equivalent or better than reference ( $RED < RED_{ref} + 1$ ); Yellow = Equivalent or slightly worse than reference ( $RED_{ref} + 1 < RED < RED_{ref} + 3$ ); Red = worse than reference ( $RED > RED_{ref} + 3$ )

<sup>a</sup> solvent = ethanol / water (80 : 20, mass ratio)

<sup>b</sup> solvent = ethanol / water (30 : 70, mass ratio)

A COSMO-RS simulation was also performed to determine the relative solubility of the target components in several solvents. Table V. 3 reports the solubility results, expressed in  $\log(x_{solub})$ .

The results of COSMO-RS simulations are mostly in accordance with the HSP evaluation. Considering TAGs, *n*-hexane and HFO-1234ze showed the best relative solubility values, i.e.  $\log(x_{solub}) = 0$ . For carotenes, *n*-hexane is still the best solvent whereas HFO-1234ze showed slightly lower relative

solubility power ( $\log(x_{\text{solub}}) = -0.32$ ). However contrary to HSP calculations, COSMO-RS set the mixture water/ethanol (70:30, mass ratio) as best solvent for the solubilization of rosmarinic acid.

Finally, COSMO-RS evaluated that HFO-1234ze is worse than reference solvents for the solubilization of oleuropein ( $\log(x_{\text{solub}}) = -2.15$ ), tyrosol ( $\log(x_{\text{solub}}) = -1.31$ ), rosmarinic acid ( $\log(x_{\text{solub}}) = -1.11$ ) and carnosic acid ( $\log(x_{\text{solub}}) = -0.63$ ).

Table V. 3 - COMSO-RS relative solubility values,  $\log(x_{\text{solub}})$  at 40 °C.

Compounds	HFO-1234ze	<i>n</i> -hexane	Ethanol	Acetone	Water
TAG 1	0.00	-0.48	-1.72	0.00	-22.02
TAG 2	0.00	0.00	-2.30	0.00	-24.35
TAG 3	0.00	0.00	-2.29	0.00	-24.34
TAG 4	0.00	0.00	-2.56	-0.07	-25.06
$\alpha$ -carotene	-0.32	0.00	-1.89	0.00	-16.16
$\beta$ -carotene	-0.32	-0.01	-1.89	0.00	-16.20
Oleuropein	-2.15	-6.49	0.00 <sup>a</sup>	0.00	-4.13
Tyrosol	-1.32	-2.83	0.00 <sup>a</sup>	0.00	-2.02
Carnosic acid	-0.63	-2.14	0.00	0.00	-4.59
Rosmarinic acid	-1.11	-3.84	0.00	0.00	0.00 <sup>b</sup>

Grey = Reference solvent; Green = equivalent or better than reference ( $\log(x_{\text{solub}}) = 0$ ); Yellow = Equivalent or slightly worse than reference ( $\log(x_{\text{solub}}) > -1$ ); Red = worse than reference ( $\log(x_{\text{solub}}) < -1$ )

<sup>a</sup> solvent = ethanol / water (80 : 20, mass ratio)

<sup>b</sup> solvent = ethanol / water (30 : 70, mass ratio)

It can be concluded that both HSP and COSMO-RS simulations suggest that HFO-1234ze is a good potential candidate for the substitution of *n*-hexane for the extraction of lipophilic compounds, but is unlikely to substitute more polar or protic solvents such as ethanol/water or acetone for extraction of polyphenol or organic acids.

### V.3.3. Qualitative and quantitative comparison of extracts from rapeseeds

Quantitative study of rapeseed oil extraction using *n*-hexane and HFO-1234ze are presented in Figure V. 1. The extraction kinetics (Figure V. 1-A) showed that for HFO-1234ze at 30 °C, the extraction plateau is reached in only 15 min, with a yield of 2.5%. In comparison, *n*-hexane allowed extraction yields of 9.5% at 30 °C and 13.1% and 68 °C in only 15 min. After 120 min of extraction, extraction yield with HFO-1234ze was only 3.0% at 30 °C, whereas extractions performed with *n*-hexane resulted in higher

yields (14% at 30 °C and 25% at 68 °C) as observed by Sicaire *et al.* [25]. This difference is likely to be caused by a much higher solubility of rapeseed oil in *n*-hexane compared with HFO-1234ze.

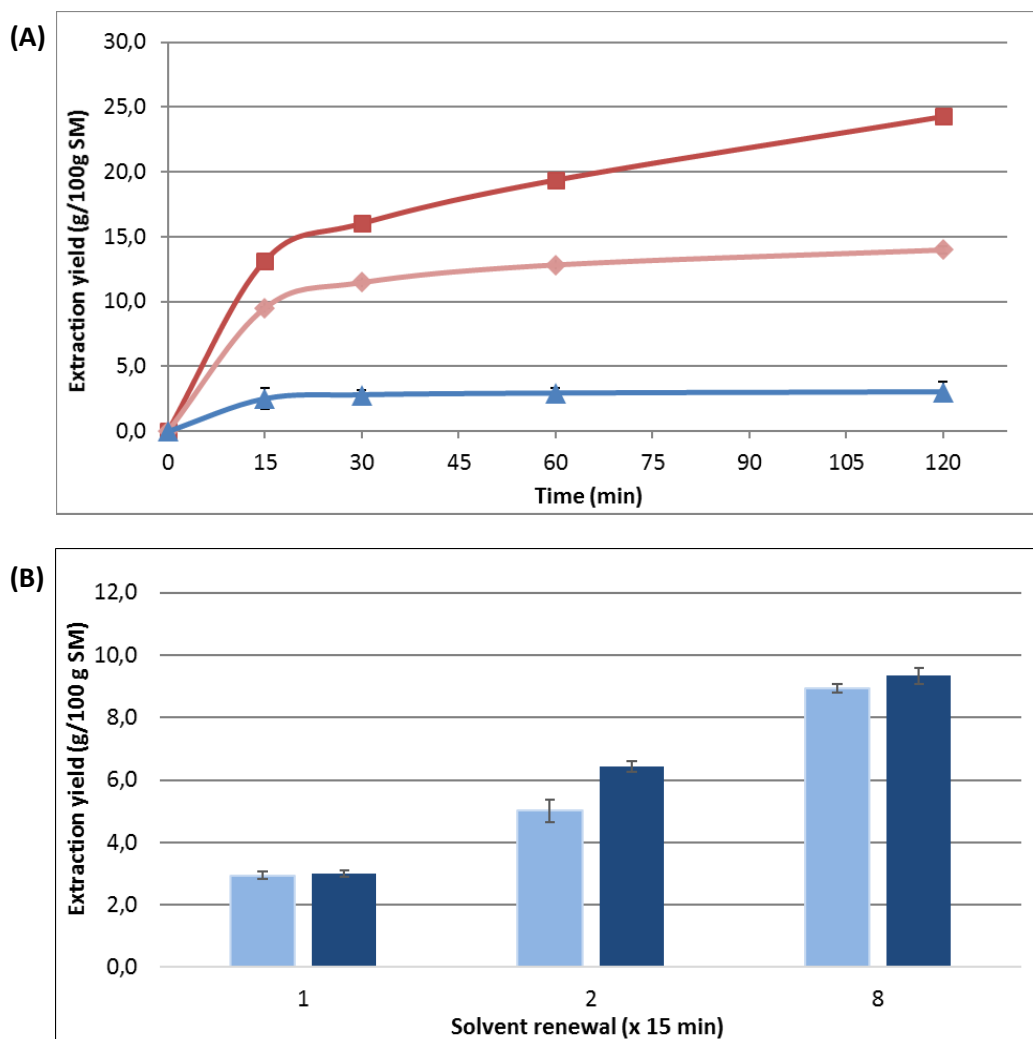


Figure V. 1 - (A) Extraction kinetics of rapeseed oil extracted with HFO-1234ze at 30 °C (triangles) and *n*-hexane at 30 °C (diamonds) and 68 °C (squares) - (B) Effect of HFO-1234ze renewals on the extraction yield at 20 °C (light blue) and 30 °C (dark blue)

Considering that the extraction plateau is reached rapidly with HFO-1234ze, a new set of experiments was made with successive solvent renewals every 15 min, in order to improve the extraction yield. The easy vaporization of HFO-1234ze and the significant difference of boiling point with rapeseed oil compounds allowed complete solvent recycling (> 95%<sub>vol</sub>) in only 10 min. Results of extractions performed with a solvent/matrix contacting time of 2x15 and 8x15 min are shown in Figure V. 1-B.

Compared with the reference (1x15 min), the solvent renewal substantially improved the extraction yield. At 30 °C, HFO-1234ze enabled to reach an average oil yield of 6.4% and 9.5% with respectively 1 and 7 successive solvent renewals. These results are in accordance with the hypothesis of a rapid saturation of rapeseed oil in the solvent. The non-linear evolution of the extraction yield with the



number of renewall suggests the exhaustion of the raw material after 7 renewals. However, there is still a gap between the final extraction yields obtained with HFO-1234ze (9.5%) and *n*-hexane (14%) at 30 °C. Even if the difference of rapeseed oil solubility in both solvent may be a reason, the differences related to the apparatus used for extractions using *n*-hexane and HFO-1234ze (slower heat and mass transfer, losses in the equipment etc.) are also likely to impact the extract recovery.

At the same time, rapeseed oils obtained with HFO-1234ze and *n*-hexane were compared qualitatively with HPTLC and GC to determine the lipid classes and the fatty acid distribution. HPTLC analysis of the extracts showed that the only lipid class was triglycerides, with both solvents. Fatty acid distributions of the extracts obtained with HFO-1234ze and *n*-hexane are compared in Table V. 4.

Table V. 4 - Fatty acid composition of rapeseed oil extracted with HFO-1234ze and *n*-hexane.

Fatty acids	HFO-1234ze	<i>n</i> -hexane
	T= 30 °C	T= 68 °C
<b>unit : g/100 g</b>		
<b>C16</b>	4.51 ± 0.04	4.54 ± 0.06
<b>C18</b>	1.21 ± 0.06	1.08 ± 0.19
<b>C18: 1 n-9</b>	63.61 ± 0.87	63.02 ± 0.20
<b>C18: 2 n-6</b>	20.75 ± 0.31	20.16 ± 0.07
<b>C18: 3 n-3</b>	8.07 ± 1.29	9.33 ± 0.01
<b>C20</b>	0.59 ± 0.01	0.62 ± 0.05
<b>C20: 1</b>	1.25 ± 0.01	1.25 ± 0.06
<b>Σ SFAs</b>	6.31	6.24
<b>Σ MUFAs</b>	64.86	64.27
<b>Σ PUFAs</b>	28.82	29.49

Rapeseed oils from both solvents are composed of respectively: 28.82 and 29.49 g/100 g of poly-unsaturated fatty acids, 64.86 and 64.27 g/100 g of mono-unsaturated fatty acids and 6.31 and 6.24 g/100 g of saturated fatty acids. Fatty acids distributions are similar for both studied solvents. Despite the difference of temperature (30 °C for HFO-1234ze ; 68 °C for *n*-hexane) there was no marked impact on the fatty acid distribution, as observed in a previous work [8]. Thus, rapeseed oils can be extracted by HFO-1234ze with an equal fatty acid composition compared to *n*-hexane, even at low temperatures (30 °C).

### V.3.4. Qualitative and quantitative comparison of extracts from dried carrots

Quantitative and qualitative analysis of carotenoids extracts obtained with HFO-1234ze and *n*-hexane are presented in Table V. 5. Comparison of the extraction yields obtained with both solvents shows a lower extraction yield with HFO-1234ze, with 1.1 g of extract for 100 g of starting material against 4.3 g/100 g with *n*-hexane. Moreover, the determination of the carotenoids contents in each extract by UV-Vis spectroscopy reveals that extract obtained with HFO-1234ze are about 6 times poorer in carotenes compared to *n*-hexane (4.75 vs 26.90 mg of equivalent  $\beta$ -carotene for 100 g of starting material).

Table V. 5 - Extraction yield and composition of carrot oleoresin obtained with HFO-1234ze and *n*-hexane.

Solvent	T (°C)	Time (h)	Extraction yield (g/100 g material)	Carotenoid yield (mg/100 g material)	HPLC identified $\beta$ -carotenes (g/100 g extract)		
					13-cis- $\beta$ -carotene	9-cis- $\beta$ -carotene	all trans- $\beta$ -carotene
<b>HFO-1234ze</b>	30	3 x 1 h	1.16	4.75	7.2	3.4	89.4
<b><i>n</i>-hexane</b>	68	3 x 1 h	4.29	26.90	14.0	4.9	81.1

The HPLC analysis of the extract showed some differences in the distribution of  $\beta$ -carotene isomers. Indeed, 3 main isomers of  $\beta$ -carotene can be found in vegetable extracts: all-*trans*- $\beta$ -carotene, 9-*cis*- $\beta$ -carotene and 13-*cis*- $\beta$ -carotene. All-*trans*- $\beta$ -carotene is the most abundant isomer with the higher antioxidant activity, but during extractions, undesirable  $\beta$ -carotene *cis*-isomers may be formed by thermal isomerization, resulting in a decrease of the antioxidant activity [26]. Results presented in Table V. 5 show that extracts obtained with HFO-1234ze contain less *cis* isomers (10.6%) than with *n*-hexane (18.9%). The advanced degradation of all-*trans*- $\beta$ -carotene into *cis*- $\beta$ -carotene in extracts obtained with *n*-hexane is probably due to the higher extraction temperature.

These results suggest that liquefied HFO-1234ze only extracts of a little fraction of the carotenes content but the low temperature process leads to an extract of better quality.

### V.3.5. Qualitative and quantitative comparison of extracts from olive leaves

Results of extractions of olive leaves with HFO-1234ze and ethanol/water (reference solvent) are reported in Table V. 6. The highest extraction yield was reached with the mixture ethanol/water (18.3%) whereas HFO-1234ze only achieves a yield of 0.2%. Moreover, the results of the determination of the total polyphenols content show that extracts obtained with HFO-1234ze only 7% of polyphenols (considering that ethanol/water extraction reached 100%).

Table V. 6 - Extraction yield and composition of olive leaves extracts obtained with HFO-1234ze and a mixture ethanol/water.

Solvent	T (°C)	Time (h)	Extraction yield (g/100 g material)	Relative polyphenols content (%)
HFO-1234ze	30	3 x 1 h	0.2	7
Ethanol / water (80:20)	60	3 x 1 h	18.3	100

Even if the difference of extraction temperature between HFO-1234ze (30 °C) and ethanol/water (60 °C) could explain the lower extraction yield, the low polyphenols content in the extracts demonstrates a low solubility in the solvent, in accordance with HSP and COSMO-RS predictions.

### V.3.6. Qualitative and quantitative comparison of extracts from rosemary leaves

Rosemary leaves extracts obtained with HFO-1234ze and acetone (reference solvent) are compared both qualitatively and quantitatively. Results are reported in Table V. 7. The highest extraction yield was reached with acetone was (11.8%) whereas HFO-1234ze only achieve a yield of 2.1%. Results of HPLC analysis of the extracts exhibit a low content in carnosic acid in extracts obtained HFO-1234ze (2.44 g/100 g of extract) whereas extracts with acetone show higher purity (14.5 g/100 g of extract), in accordance with the results obtained by the European Food Safety Authority [27].

Table V. 7 - Extraction yield and composition of rosemary leaves extracts obtained with HFO-1234ze and acetone.

Solvent	T (°C)	Time (h)	Extraction yield (g/100 g SM)	Carnosic acid content (g / 100 g extract)
HFO-1234ze	30	3 x 1 h	2.1	2.45
acetone	56	1 h	11.8	14.45

SM, starting material

Once again, even if the difference of extraction yield is probably caused by a difference of extraction temperature between HFO-1234ze (30 °C) and acetone (56 °C), the low carnosic acid content in the extracts shows a low solubility in the solvent, in accordance with HSP and COSMO-RS predictions.

In conclusion, the experimental study tends to prove that the use of HFO-1234ze is not suitable for extraction of more polar compound such as polyphenols or organic acids, but could be used for lipophilic compounds. In particular, extractions of rapeseed oil were achieved even at low temperatures (30 °C) for HFO-1234ze with an equal oil composition compared to *n*-hexane. However,

higher mass extraction yields were systematically obtained with the reference solvents (*n*-hexane, ethanol/water and acetone). For oil extraction, this gap could be reduced by acting on temperature or by changing the process, leaving the batch process for a semi-continuous one [17].

Lastly, it has been shown that experimental data, HSP and COSMO-RS simulations were well correlated for almost each target compounds.

## V.4. Conclusion

The applicability of HFO-1234ze as a new solvent for extraction of natural products was evaluated. A relative solvent screening using HSP and COSMO-RS simulation tools showed that HFO-1234ze can be an alternative only for the extraction of lipophilic compounds. The experimental laboratory study confirms these theoretical simulations. In the case of hydrophilic solutes, only little amount of the target compounds was detected in the final extracts, in accordance with *in-silico* simulations. For lipophilic compounds, qualitative comparison of the extracts showed similar profiles between HFO-1234ze and *n*-hexane, with even higher purity for carrots oleoresin when using liquefied gas. However, the extraction yields obtained using HFO-1234ze were always significantly lower than the reference, due to the lower solubility of the lipophilic compounds compared to *n*-hexane.

Currently, the regulatory context still restrains the use of HFO-1234ze only for non-food applications. However, HFO-1234ze offers a greener alternative to R134a which is already accepted as extraction solvent in Europe (Directive 2009/32/EC), therefore there is no technical reason to prevent HFO-1234ze of being used for foodstuff production in the future.

## V.5. References

1. Fréville V (2011) Caractérisation et évaluation des performances de nouveaux solvants synthétisés à partir d'agro-ressources. Doctoral thesis, Université de Technologie de Compiègne
2. Grand View Research (2016) Hexane market analysis by grade (polymerization, extraction), by application (edible oil extraction, industrial solvent, adhesive formulation, leather treatment) and segment forecasts to 2024. Grand View Research Inc., San Francisco
3. Henderson RK, Jiménez-González C, Constable DJC, Alston SR, Inglis GGA, Fisher G, Sherwood J, Binks SP, Curzons AD (2011) Expanding GSK's solvent selection guide – embedding sustainability into solvent selection starting at medicinal chemistry. *Green Chemistry* 13:854–862
4. Sicaire A-G (2016) Solvants alternatifs et techniques innovantes pour l'éco-extraction des huiles végétales à partir de graines oléagineuses. Doctoral thesis, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse
5. Capeletto C, Conterato G, Scapinello J, Rodrigues FS, Copini MS, Kuhn F, Tres MV, Dal Magro J, Oliveira JV (2016) Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of guavirova (*Campomanesia xanthocarpa* Berg) seed extracts obtained by supercritical CO<sub>2</sub> and compressed n-butane. *The Journal of Supercritical Fluids* 110:32–38
6. Liu HM, Wang FY, Li HY, Wang XD, Qin GY (2015) Subcritical butane and propane extraction of oil from rice bran. *Bioresources* 10:4652–4662
7. Novello Z, Scapinello J, Magro JD, Zin G, Luccio MD, Tres MV, Oliveira JV (2015) Extraction, chemical characterization and antioxidant activity of andiroba seeds oil obtained from pressurized n-butane. *Industrial Crops and Products* 76:697–701
8. Rapinel V, Rombaut N, Rakotomanomana N, Vallageas A, Cravotto G, Chemat F (2017) An original approach for lipophilic natural products extraction: Use of liquefied n-butane as alternative solvent to n-hexane. *LWT - Food Science and Technology* 85:524–533
9. Ahangari B, Sargolzaei J (2012) Extraction of pomegranate seed oil using subcritical propane and supercritical carbon dioxide. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering* 46:258–265
10. Castaneda-Acosta J, Cain AW, Fischer NH, Knopf FC (1995) Extraction of bioactive sesquiterpene lactones from *Magnolia grandiflora* using supercritical carbon dioxide and near-critical propane. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43:63–68

11. Corso MP, Fagundes-Klen MR, Silva EA, Cardozo L, Santos JN, Freitas LS, Dariva C (2010) Extraction of sesame seed (*Sesamun indicum* L.) oil using compressed propane and supercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids* 52:56–61
12. Kanda H, Kamo Y, Machmudah S, Wahyudiono EY, Goto M (2014) Extraction of fucoxanthin from raw macroalgae excluding drying and cell wall disruption by liquefied dimethyl ether. *Marine drugs* 12:2383–2396
13. Kanda H, Li P, Ikehara T, Yasumoto-Hirose M (2015) Lipids extracted from several species of natural blue–green microalgae by dimethyl ether: extraction yield and properties. *Fuel* 95:88–92
14. Sakuragi K, Li P, Aoki N, Otaka M, Makino H (2016) Oil recovery from wet *Euglena gracilis* by shaking with liquefied dimethyl ether. *Fuel Processing Technology* 148:184–187
15. Cerny C (2000) Analysis of rosemary volatiles using 1,1,1,2-tetrafluoroethane as extraction solvent. *Deutsche Forschungsanstalt fuer Lebensmittelchemie, Garching*
16. Han Y, Ma Q, Wang L, Xue C (2012) Extraction of astaxanthin from *Euphausia pacific* using subcritical 1,1,1,2-tetrafluoroethane. *Journal of Ocean University of China* 11:562–568
17. Lapkin AA, Plucinski PK, Cutler M (2006) Comparative assessment of technologies for extraction of artemisinin. *Journal of Natural Products* 69:1653–1664
18. Suberu J, Yamin P, Cornell R, Sam A, Lapkin A (2016) Feasibility of using 2,3,3,3-tetrafluoropropene (R1234yf) as a solvent for solid-liquid extraction of biopharmaceuticals. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 4:2559–2568
19. Achaichai N (2010) HFOs come on the scene in refrigeration and air conditioning systems
20. Luecken DJ, L. Waterland R, Papisava S, Taddonio KN, Hutzell WT, Rugh JP, Andersen SO (2010) Ozone and TFA Impacts in North America from degradation of 2,3,3,3-tetrafluoropropene (HFO-1234yf), a potential greenhouse gas replacement. *Environmental Science & Technology* 44:343–348
21. Wallington TJ, Sulbaek Andersen MP, Nielsen OJ (2010) Estimated photochemical ozone creation potentials (POCPs) of CF<sub>3</sub>CFCH<sub>2</sub> (HFO-1234yf) and related hydrofluoroolefins (HFOs). *Atmospheric Environment* 44:1478–1481
22. Birtić S, Dussort P, Pierre F-X, Bily AC, Roller M (2015) Carnosic acid. *Phytochemistry* 115:9–19
23. Hasan N, Farouk B (2013) Mass transfer enhancement in supercritical fluid extraction by acoustic waves. *The Journal of Supercritical Fluids* 80:60–70

24. Wang H, Provan GJ, Helliwell K (2004) Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC. *Food Chemistry* 87:307–311
25. Sicaire A-G, Vian M, Fine F, Carre P, Tostain S, Chemat F (2015) Experimental approach versus COSMO-RS assisted solvent screening for predicting the solubility of rapeseed oil. *OCL* 22:1–7
26. Knockaert G, Pulissery SK, Lemmens L, Van Buggenhout S, Hendrickx M, Van Loey A (2013) Isomerisation of carrot  $\beta$ -carotene in presence of oil during thermal and combined thermal/high pressure processing. *Food Chemistry* 138:1515–1520
27. European Food Safety Authority (2008) Scientific opinion of the panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food. *The EFSA Journal* 721:1–29

### **Regulations**

Directive 2009/32/EC of the European Parliament and of the Council of 23 April 2009 on the approximation of the laws of the Member States on extraction solvents used in the production of foodstuffs and food ingredients (amended by directives 2010/59/EU and 2016/1855/EU). *OJ L* 141, 6.6.2009, p. 3–11.

# Chapitre VI – Liquefied gases as alternative solvents for extraction of aromatic compounds

Rapinel, V., Santerre, C., Hanaei, F., Belay, J., Vallet, N., Rakotomanomana, N., Vallageas, A. & Chemat, F. Potentialities of using liquefied gases as alternative solvents to substitute hexane for the extraction of aromas from fresh and dry natural products. *Comptes Rendus Chimie*, in press.



## VI.1. Introduction

Nowadays aromas are essential ingredients that find widespread utilization in the food and perfume industries. The use of petroleum-based aromas in the modern food and perfume industries is a common practice, but there is a growing concern about their actual or potential effect on human health, resulting in an increasing demand of consumers for natural aromas. This concern has led to an increasing interest and utilization of natural products as alternative food aromas. It is therefore not surprising that the global market value for aromas was estimated in USD\$ 26 billion in 2015 and is projected to reach nearly USD\$ 30 billion in 2020, with a compound annual growth rate (CAGR) of 5% [1, 2].

Extraction of aromas from natural products could be considered as a “clean process” in comparison with extraction processes currently used in other industries, however recent studies have shown that their environmental impact is greater than first appeared [3]. As the raw extraction yields are often very low (<1%), the production of aromas requires huge amounts of plant material and solvent, mainly hexane as the most consumed petroleum-based solvent for the production of concrete. Other solvents could be used such as toluene, pentane or dichloromethane. After this first extraction, ethanol (bio-based solvent) is needed for a second step in this process, for production of the absolute from the concrete. Aromas could be obtained also in the form of essential oils by steam or hydrodistillation of fresh aromatic herbs or dry spices. Evaporation of such amounts of solvent is known to be very energy intensive, such that the extraction and evaporation step is often responsible for more than 50% of the overall process energy consumption. Moreover, the traditional extractions techniques (steam distillation, solvent extraction) generally involve high process temperatures that may greatly affect the product quality, in particular in the case of sensitive flowers that contain thermos sensitive compounds (rose, jasmine).

In order to promote eco-friendly extraction processes in the industry, Chemat *et al.* [4] established the “six principles of Green Extraction of Natural Products”, inspired from the principles of Green chemistry. By definition, green extraction “*is based on the discovery and design of extraction processes which will reduce energy consumption, allows use of alternative solvents and renewable natural products, and ensure a safe and high quality extract/product*”. The application of these principles already led to several success stories, with the emergence of new innovative green extraction processes based on innovative techniques and alternative solvents [5, 6].

Still, more work need to be done to find viable alternatives to conventional toxic solvents, in particular hexane which is still commonly used for extraction of lipophilic compounds. This constant search for

alternative solvents revived the interest of scientists for liquefied gases, in particular *n*-propane, *n*-butane, dimethyl ether (DME), 1,1,1,2-tetrafluoroethane (R134a), 1,3,3,3-tetrafluoropropene (HFO-1234ze) and 2,3,3,3-tetrafluoropropene (HFO-1234yf). Indeed, those gases require only gentle pressure (< 1 MPa) to remain in a liquid state and can be very easily evaporated at low temperature. Therefore, liquefied gas extraction processes can be performed at room temperature, with low energy consumption and very few traces of residual solvent. Therefore, liquefied gases extraction preserves the quality of both raw material and extract and reduces the number of post-treatment steps. Moreover, their chemical structures make them suitable for extraction of lipophilic compounds in replacement of existing toxic solvents. In that sense, liquefied gas extractions offer a potential alternative technology in accordance with the principles of green extraction of natural products.

Recently, many experimental studies have been carried out in order to evaluate their potential. In particular, *n*-propane, *n*-butane or DME have been extensively investigated for the extraction of fats and oil from seeds [7–12] or micro-organisms [13–18]. Surprisingly, despite the potential of liquefied gases for extraction of volatile and sensitive molecules, only few studies on aromatic compounds can be found in literature [19–22].

To fill this gap, we tried to compare in this paper the performance of three liquefied gases (*n*-butane, DME, HFO-1234ze) as potential alternative solvents for the extraction of aromatic compounds from two plant materials: dry lavender flowers (*Lavandula angustifolia* Mill.) and fresh orange peels (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). The solvent evaluation was performed using distinct approaches. First, a predictive approach was conducted using the COSMO-RS (COnductor like Screening MOdel for Real Solvents) model to predict the relative solubility of some selected target components in the liquefied gases. This theoretical approach was coupled with lab-scale experiments, to assess the quantitative (extraction yields) and qualitative (chemical composition, sensorial analysis) aspects of the extracts in order to compare the efficiency of liquefied gases regarding to *n*-hexane, chosen as reference conventional solvent.

## VI.2. Materials and methods

### VI.2.1. Materials

The liquefied gases used for pilot-scale extractions, i.e. *n*-butane 95% purity, dimethyl ether (DME) 99.9% purity and trans-1,3,3,3-tetrafluoroprop-1-ene (HFO-1234ze) 99.5% purity, were purchased from Inventec Performance Chemical (St Priest, France) whereas *n*-hexane analytical grade was purchased from VWR International (Radnor, USA).

Dried lavender flowers (*Lavandula angustifolia* Mill.; water content = 7.5%) and frozen orange peels (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck; water content = 72%) were purchased from local suppliers.

### VI.2.2. Extraction and analytical methods

Lavender flowers and orange peels extracts obtained with *n*-butane, HFO-1234ze, DME and *n*-hexane were extracted and analyzed using procedures described in Chapter III.

### VI.2.3. Liquefied gases vs. n-hexane: determination of technical properties

Table VI. 1 reports some physicochemical properties of liquefied HFO-1234ze, *n*-butane, DME and *n*-hexane. Technical data was obtained from ACD-labs and from suppliers (VWR International, Inventec Performance Chemicals). The global energy of evaporation for 1 kg of liquid solvent was calculated using the following equation (Eq. 8), considering the following initial state: pure incompressible liquid at 25 °C and 101 kPa for *n*-hexane, 499 kPa for HFO-1234ze, 590 kPa for DME and 243 kPa for *n*-butane.

$$E_{tot} = E_{heat}(T_0 \rightarrow T_b) + E_{vap} = \int_{T_0}^{T_b} C_{p_m} \cdot dT + \Delta H_{vap}(T_b)$$

where  $E_{tot}$  (kJ/kg) is the energy required to evaporate 1 kg of solvent starting from  $T_0 = 25$  °C,  $E_{heat}$  (kJ/kg) is the energy required to heat up the solvent of 1 °C,  $E_{vap}$  (kJ/kg) is the energy required to vaporize 1 kg of liquid,  $C_{p_m}$  (kJ/kg.K) is the specific heat,  $T_b$  (°C) is the boiling point of the solvent in the process conditions of pressure and  $\Delta H_{vap}$  (kJ/kg) is the vaporization enthalpy at the boiling point.

## VI.3. Results and discussion

### VI.3.1. Liquefied gases as alternative solvents to n-hexane: properties comparison

In order to evaluate if liquefied gases can be alternatives to *n*-hexane, technical properties of each solvent were compared. As shown in Table VI. 1, HFO-1234ze, DME and *n*-butane exhibit very specific properties, most of them are unusual compared to conventional solvents, in particular boiling points and vapor pressures.

Table VI. 1 - Comparison of technical properties of liquefied gases vs. *n*-hexane.

Properties	Unit	HFO-1234ze	DME	<i>n</i> -butane	<i>n</i> -hexane
Chemical structure					
Molecular formula		C <sub>3</sub> H <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>
Molecular weight	[g/mol]	114.04	46.07	58.12	86.18
Boiling point (101.3 kPa)	[°C]	-18.9	-24.8	-0.5	68.5
Vapor pressure (25 °C)	[kPa]	499	590	243	21
Specific heat (25 °C)	[kJ/kg.K]	1.39	2.43	2.43	2.23
Latent heat of vaporization	[kJ/kg]	163 <sup>a</sup>	400 <sup>a</sup>	361 <sup>a</sup>	334
Energy to evaporate 1 kg from 25 °C	[kW.h]	0.05 <sup>a</sup>	0.11 <sup>a</sup>	0.10 <sup>a</sup>	0.12
Liquid phase density (25 °C)	[kg/m <sup>3</sup> ]	1163	661	573	650
Liquid phase viscosity (25 °C)	[mPa.s]	0.20	0.12	0.16	0.32
Log P		1.3	-0.1	2.9	3.9
Solubility in water (25 °C)	[kg/m <sup>3</sup> ]	0.37	515 <sup>a</sup>	0.07	0.01
ODP <sup>b</sup>	eq. CFC-11	0	0	0	n.a.
GWP <sub>100</sub> <sup>c</sup>	eq. CO <sub>2</sub>	6	1	20	n.a.
GHS <sup>d</sup> labels					
Hansen Solubility Parameters	[MPa <sup>1/2</sup> ]				
δ <sub>d</sub>		13.9	15.2	14.1	14.9
δ <sub>p</sub>		3.3	6.1	0	0
δ <sub>h</sub>		2.8	5.7	0	0

<sup>a</sup> Values at 25 °C, under vapor pressure ; <sup>b</sup> Ozone Depletion Potential ; <sup>c</sup> Global Warming Potential (100 years); <sup>d</sup> Globally Harmonized System of classification and labelling of chemicals ; n.a. = not applicable

HFO-1234ze, DME and *n*-butane have a boiling point lower than 0 °C at atmospheric pressure, respectively -18.9, -24.8 and -0.5 °C and they generate vapor pressures of respectively 499 kPa, 590 kPa, and 243 kPa at 25 °C. Even if these relatively high vapor pressures have an impact the cost of industrial extraction units (higher is the operating pressure, higher is the investment cost), they also

make the solvent much easier to separate from the extract and from the raw material and limit the number of purification steps. Liquefied gases also exhibit interesting physical properties that make them good candidate as alternative solvents.

Indeed, in a previous work we calculated that HFO-1234ze requires much less energy to be evaporated (0.05 kW.h for 1 kg) compared with conventional solvents, such as *n*-hexane, ethanol, acetone and water [9]. Due to higher latent heat of vaporization caused by high Van Der Waals interactions, the energy required to evaporate 1 kg of DME and *n*-butane resulted in similar values with *n*-hexane, with respectively 0.11, 0.10 and 0.12 kW.h. As a comparison, evaporation of 1 kg of water at 25 °C requires about 0.71 kW.h.

Like most halogenated solvents, HFO-1234ze exhibits a high density (1163 kg/m<sup>3</sup>) compared to DME, *n*-butane or *n*-hexane (661, 573 and 650 kg/m<sup>3</sup> respectively). Interestingly, liquefied gases also has very low viscosities (0.20, 0.12 and 0.16 mPa.s respectively) compared to *n*-hexane (0.32 mPa.s), such as they can easily flow throughout the plant material, resulting in higher internal mass transfer [23]. Regarding to the Hansen solubility parameters and log P values, DME can be defined as neither polar nor apolar (log P = -0.1) whereas HFO-1234ze (log P = 1.3), *n*-butane (log P = 2.9) can be defined as lipophilic, making them potential alternative to *n*-hexane (log P = 3.9).

Among liquefied gases, DME is the only one being quantitatively miscible with water (solubility in water = 515 kg/m<sup>3</sup> at 25 °C). This specificity makes it suitable for direct extraction of highly wet material contrary to HFO-1234ze, *n*-butane and *n*-hexane that are more efficient on dry material.

Considering chemical reactivity, the liquefied gases considered in this study are assumed chemically inert at gentle temperature as they are currently used as propellant gases and solvents in aerosol formulations containing a wide range of chemicals. To our knowledge, no evidence of side reactions has been reported in literature.

### VI.3.2. Evaluation of target compounds predicted solubility in liquefied gases and *n*-hexane using COSMO-RS model

The COSMO-RS model was used as prediction tool to assess the ability of liquefied gases to dissolve major components found in lavender flowers and orange peels extracts, relatively to *n*-hexane. For the calculations, 6 representative compounds of lavender (linalool, linalyl acetate, caryophyllene, terpinen-4-ol, lavendulyl acetate, caryophyllene oxide) and orange ( $\beta$ -pinene, limonene,  $\alpha$ -terpineol, *n*-decanal, valencene, nerol) essential oils were selected as target components to be solubilized in HFO-1234ze, DME, *n*-butane and *n*-hexane, the reference solvent. Table VI. 2 reports the relative solubility results, expressed in  $\log(x_{\text{solub}})$ .

Table VI. 2 - COSMO-RS relative solubility values -  $\log(x_{solub})$  - at 25 °C for major compounds found in lavender and orange peels extracts.

Compounds		<i>n</i> -hexane	<i>n</i> -butane	DME	HFO-1234ze
Lavender flowers	Linalool	-1.23	-1.18	0.00	-0.41
	Linalyl acetate	-0.40	-0.32	0.00	0.00
	Caryophyllene	0.00	0.00	0.00	-0.51
	Terpinen-4-ol	-0.65	-0.61	0.00	-0.32
	Lavandulyl acetate	-0.41	-0.33	0.00	0.00
	Caryophyllene oxide	-0.08	0.00	0.00	-0.15
Orange peels	$\beta$ -myrcene	-0.16	-0.09	0.00	-0.29
	Limonene	-0.08	-0.03	0.00	-0.35
	$\alpha$ -terpineol	-0.90	-0.87	0.00	-0.29
	<i>n</i> -decanal	-0.25	-0.21	0.00	0.00
	Valencene	-0.01	0.00	0.00	-0.52
	Nerol	-1.09	-1.04	0.00	-0.30

Grey = reference solvent; Green = solvent better than the reference ( $\log(x_{solub}) > \log(x_{solub})[ref] + 0.5$ ); Yellow = solvent equivalent to the reference ( $\log(x_{solub})[ref] - 0.5 \leq \log(x_{solub}) \leq \log(x_{solub})[ref] + 0.5$ ); Red = solvent worse than the reference ( $\log(x_{solub}) < \log(x_{solub})[ref] - 0.5$ )

The results of COSMO-RS simulations show that DME is the best solvent among the list, with values of  $\log(x_{solub}) = 0$  for all solutes. In particular, for nerol and linalool, DME is significantly better solvent than *n*-hexane, with  $\log(x_{solub})$  values of 0 against -1.09 and -1.23 respectively, meaning that solutes are considered as respectively about 10 and 20 times more soluble in DME. In the case of *n*-butane, values of  $\log(x_{solub})$  are almost equal to *n*-hexane, due to the chemical structure similarity, meaning that COSMO-RS model logically predicts that a similar behavior. Both solvents resulted in good solubilization of aromatic compounds (values of  $\log(x_{solub}) > -0.50$ ), except for terpenes alcohols such as nerol, linalool, terpinene-4-ol and  $\alpha$ -terpineol. At the opposite, HFO-1234ze calculations resulted in rather good results for all compounds except for sesquiterpenes (caryophyllene and valencene).

In conclusion, the COSMO-RS simulations suggest that DME is expected to be the best solvent among the list for the solubilization of all the aromatic compounds of lavender flowers and orange peels. Simulations also indicate that HFO-1234ze has an average solvent power, whereas *n*-butane has a solubilization profile very similar to *n*-hexane.

### VI.3.3. Quantitative and qualitative comparison of extracts from lavender flowers

#### VI.3.3.1. Extraction yields

Table VI. 3 shows the extraction yields obtained from lavender flowers. With similar temperature and time conditions, extraction by solvent maceration resulted in green oleoresins with yields from 0.9% (HFO-1234ze) to 2.8% (DME).

Table VI. 3 - Extraction yields obtained with HFO-1234ze, DME, *n*-butane and *n*-hexane from lavender flowers

Solvent	T (°C)	Time	Extraction yield (g/100 g SM)	SD
HFO-1234ze	25	4x1 h	0.9	0.1
DME	25	4x1 h	2.8	0.2
<i>n</i> -butane	25	4x1 h	1.9	0.2
<i>n</i> -hexane	25	4x1 h	1.3	0.2
water	100	2 h	1.2	0.1

*SM, starting material; SD, standard deviation*

As the first studies showed that HFOs have only a limited solubilization power, it was expected to be less efficient than the other solvents. At the opposite, DME has shown its capabilities to extract a wide range of lipophilic compounds but also the *in situ* water, therefore it is not surprising that he resulted in the highest extraction yield. Between these two solvents, *n*-butane and *n*-hexane showed relatively close extraction yields with respectively 1.9 and 1.3%, in accordance with COSMO-RS simulations. Hydrodistillation (HD) was chosen as reference method and yielded 1.2% of essential oil, in agreement with literature [24]. In comparison with HD, all the four solvents (except HFO-1234ze) gave better extraction yields, although it should be borne in mind that they have the ability to extract not only aromatic compounds but also fats and waxes.

To understand further these differences, the physical impact of the extractions on the lavender flowers was assessed using scanning electron microscopy. In particular, the possible influence of the pressure generated by liquefied gases was investigated.

#### VI.3.3.2. Structural impacts of extraction processes

The SEM observation on untreated lavender inflorescences (Figure VI. 1-A) confirmed the presence of numerous glandular trichomes with a balloon shape, protected by bifurcated non-glandular trichomes, in agreement with the literature [25].

The SEM images of the samples extracted using HFO-1234 (Figure VI. 1-B), *n*-butane (Figure VI. 1-C) and *n*-hexane (Figure VI. 1-D) showed a similar feature, despite different working pressures: some

glandular trichomes are disrupted but most of them appeared only partially drained. This observation tend to show that the pressure generated at 25 °C by HFO-1234ze (499 kPa) and *n*-butane (243 kPa) did not improve glands draining. At the opposite all the glandular trichomes appeared almost empty on SEM picture of flowers treated using DME (Figure VI. 1-E). A similar impact is observed after HD at 100 °C (Figure VI. 1-F). Despite the vapor pressure of DME at 25 °C is higher than other liquefied gases (590 kPa), it seems unlikely that this limited over-pressure is responsible for the gland draining. Considering that the cuticles seems still intact, the use of DME should have enhanced the mass transfer through the cell membrane due to (i) a better solute solubilization due to DME ability to be an hydrogen bond acceptor (ii) the miscibility of DME with cellular water. Even if these hypotheses will have to be confirmed by extensive investigations, the ability of DME to pass the cellular membranes have already been observed by Kanda *et al* [13, 26]. Moreover, Chen & Spiro [27] have also observed similar phenomenon during extraction of rosemary using ethanol and they hypothesized that the water miscibility of the solvent greatly enhanced the solvent penetration into the cells, compared with *n*-hexane.

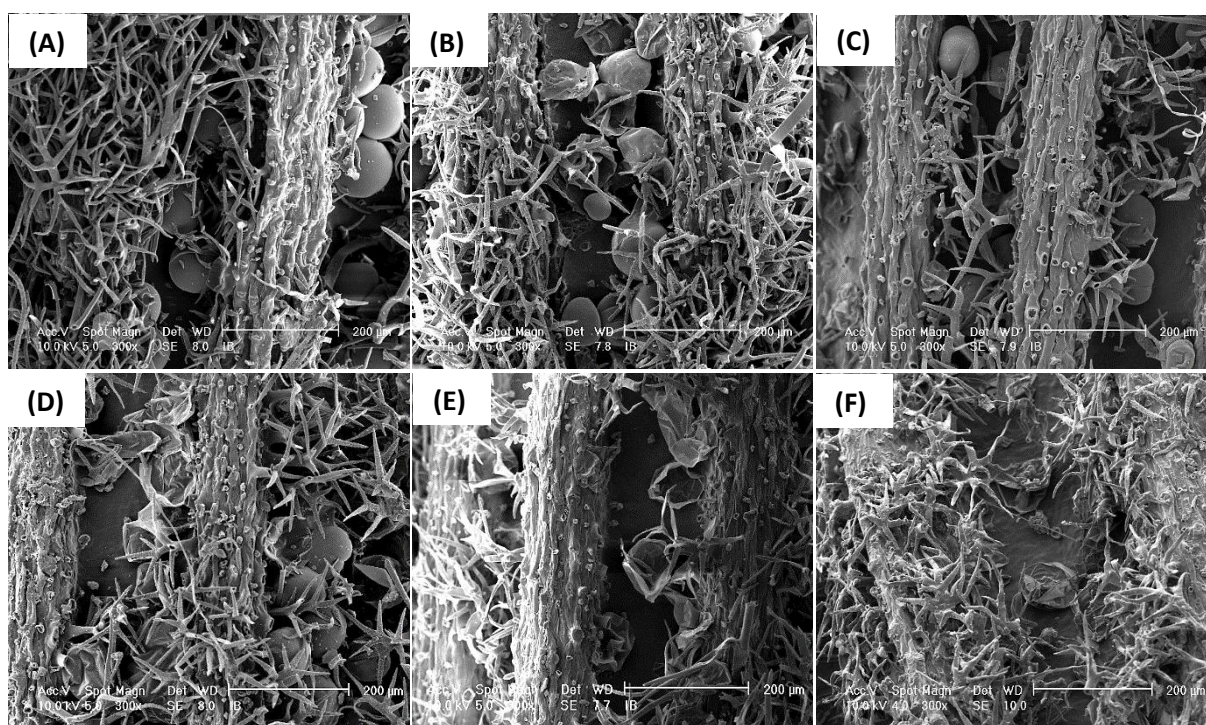


Figure VI. 1 - Lavender flowers observed by SEM (zoom x300) ; (A) raw material, (B) after extraction with HFO-1234ze, (C) after extraction with *n*-butane, (D) after extraction with *n*-hexane, (E) after extraction with DME, (F) after HD.



### VI.3.3.3. Chemical compositions

In light of the differences in terms of chemical properties, COSMO-RS results and extraction yields, the HD and the solvent macerations should result in significant variations in the chemical composition of the extracts.

Chromatographic profiles of each of extracts samples were analyzed and peaks were identified by NIST and ISIPCA mass spectral libraries. In total 34 compounds were identified (Table VI. 4), with respectively 31 compounds detected in the essential oil, 16 in *n*-butane and *n*-hexane extracts, 14 in DME extract and 13 in HFO-1234ze extract.

Table VI. 4 - Relative abundances of compounds found in lavender flowers extracts recovered with different solvents.

Compounds	RI <sup>a</sup>	HD (%)	<i>n</i> -butane (%)	DME (%)	HFO-1234ze (%)	<i>n</i> -hexane (%)
<b>Monoterpenes</b>		<b>4.0</b>	--	--	--	--
α-Pinene	1032	0.1	--	--	--	--
Camphene	1075	0.1	--	--	--	--
β-Myrcene	1145	0.7	--	--	--	--
3-Carene	1148	0.2	--	--	--	--
d-Limonene	1178	0.4	--	--	--	--
(E)-β-Ocimene	1242	0.9	--	--	--	--
(Z)-β-Ocimene	1245	1.2	--	--	--	--
o-Cymene	1274	0.2	--	--	--	--
Terpinolene	1286	0.2	--	--	--	--
<b>Oxygenated monoterpenes</b>		<b>88.5</b>	<b>80.0</b>	<b>81.9</b>	<b>80.0</b>	<b>78.0</b>
Eucalyptol	1213	1.8	1.8	0.9	--	2.1
cis-Linalool oxide	1420	1.5	1.1	1.5	0.7	0.9
trans-Linalool oxide	1449	2.1	1.3	1.8	0.8	0.9
Camphor	1491	0.4	0.5	--	--	0.5
Linalool	1537	36.3	14.5	14.6	17.3	14.8
Linalyl acetate	1569	18.2	45.6	49.6	44.3	42.5
Terpinen-4-ol	1591	4.5	2.9	3.4	4.4	3.4
Bornyl acetate	1620	0.2	--	--	--	--
Lavandulyl acetate	1609	7.9	6.2	7.1	5.8	5.2
Lavandulol	1677	2.2	2.0	0.9	4.0	2.8
Borneol	1677	--	4.1	2.1	2.7	4.9

$\alpha$ -Terpineol	1680	8.3	--	--	--	--
Geranyl acetate	1711	1.3	--	--	--	--
Neryl acetate	1742	1.1	--	--	--	--
Nerol	1770	0.7	--	--	--	--
Geraniol	1847	2.0	--	--	--	--
<b>Sesquiterpenes</b>		<b>1.4</b>	<b>7.0</b>	<b>7.1</b>	<b>6.3</b>	<b>7.4</b>
(E)-Caryophyllene	1594	1.4	4.6	5.1	4.5	5.0
$\alpha$ -Santalene	1644	--	2.4	2.0	1.8	2.4
<b>Oxygenated sesquiterpenes</b>		<b>4.1</b>	<b>10.6</b>	<b>9.0</b>	<b>10.7</b>	<b>12.3</b>
Caryophyllene oxide	1962	3.8	9.1	7.9	9.3	10.8
$\tau$ -cadinol	2134	0.3	1.5	1.1	1.4	1.5
<b>Other compounds</b>		<b>2.1</b>	<b>2.4</b>	<b>1.9</b>	<b>2.9</b>	<b>2.3</b>
3-Octanone	1270	0.3	--	--	--	--
Octenyl Acetate	1380	1.0	--	--	--	--
Cryptone	1645	0.6	1.0	--	--	1.1
Cuminaldehyde	1814	0.2	--	--	--	--
2,6-Dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol	1940	--	1.4	1.9	2.9	1.2

<sup>a</sup> Kovats retention index

The main components detected in all extracts are linalool and linalyl acetate, known to be mostly responsible of the lavender smell [28]. Interestingly, an inversion of the area ratio between linalool and linalyl acetate can be noted, comparing essential oil and other extracts, with a ratio of 2.00 after HD, 0.32 using *n*-butane, 0.29 using DME, 0.39 using HFO-1234ze and 0.35 using *n*-hexane. As this compound is listed as an allergen in cosmetics and perfume field (Regulation (EC) No 1223/2009), producing extracts with lower linalool content can be advantageous.

Filly *et al.* [3] showed that HD has an impact on the chemical composition of lavender essential oil. In particular, linalyl acetate is likely to be degraded into linalool but also into nerol and geraniol during maceration in boiling water [29]. As the degradation of linalyl acetate is due to an excess of water at high temperature, it is not likely to happen during extractions using organic solvents such as *n*-hexane, *n*-butane and HFO-1234ze. The case of DME is more uncertain, as the solvent has the ability to solubilize both reactants (linalyl acetate + *in situ* water). However, GC-MS results only showed limited amounts of linalool or others degradation products (nerol, geraniol,  $\alpha$ -terpineol...) in the extracts. Therefore, even using DME, the low water content and the gentle extraction temperature prevented the reaction from happening quantitatively.

It must be also noted that no volatile monoterpenes have been detected in macerations extracts (*n*-hexane or liquefied gases) whereas less volatile sesquiterpenes, such as (E)-caryophyllene, were more efficiently extracted as observed in several studies [30, 31]. Interestingly, some known aromatic compounds have been quantitatively found only using solvent macerations such as borneol, associated with balsam, camphor, herbal, woody smells and  $\alpha$ -santalene associated with woody smell. Some known aroma precursors such as 2,6-dimethyl-3,7-octadien-2,6-diol [32] have also been found.

Still, a sensorial analysis is necessary to assess if these variations in the chemical composition have led to differences in the sensorial perception.

#### *VI.3.3.4. Sensory analysis*

After the sensorial analysis of the lavender flower extracts, the 7 experts checked in total 33 different terms. 30% of these terms were related to “Fruity” category, 18% to “Aromatic” category and 15% to “Spicy” category. Additionally, 12 terms (36%) were cited only once.

Eleven terms frequently cited by experts to characterize the set of 6 lavender extracts were “Lavender”, “Thyme”, “Dry grass / Hay”, “Pepper”, “Food alcohol”, “Lemon”, “Alcohol solvent / Ethanol” and “Cut grass”, “Menthol”, “Green Menth”. These 10 terms corresponded to 59% of the checked terms. Among these 10 terms, 5 terms were checked by more than 3 experts over 7 to describe a product: “Lavender”, “Thyme”, “Dry grass / Hay”, “Pepper” and “Lemon”.

These terms were then used in order to discriminate the products based on their main common characteristics. CA on the frequency-based table (frequencies x products x 5 most frequently cited terms) shows that the first three dimensions accounted for 97% of the information, from which, the first two dimensions accounted for almost 91% of the variance (respectively 73% and 18%).

Axis 1 represents the terms “Cut grass” and it discriminates the product *n*-hexane. Axis 2 represents the term “Lemon” and it opposes the product HFO-1234ze versus HD. The characteristics “Pepper” figure in the third dimension, Figure VI. 2.

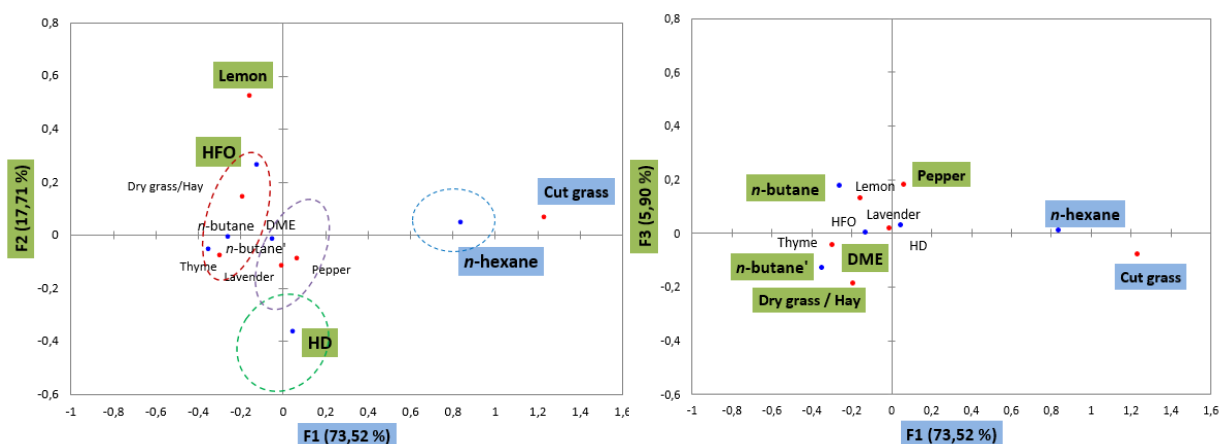


Figure VI. 2 - Sensory map for correspondence analysis of lavender extracts.

An HCA was performed after a CA on the  $\chi^2$  distance table to help the identification of groups with similar / different sensory profiles, and give an idea of product discrimination. Four main groups; G1, G2, G3 and G4 were obtained as shown in Figure VI. 3. The groups of products were separated mainly along the first dimension of CA, mostly based on odor “Grass”. HCA resulted in the same groups of products as CA.

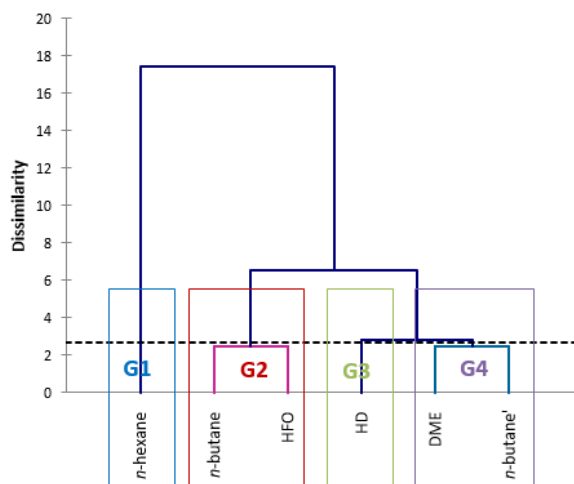


Figure VI. 3 - Dendrogram of the hierarchical cluster analysis after CA.

In conclusion, all the products were very similar in terms of olfactory profile. The term “Lavender” was checked most frequently and for the entire product set. However, this descriptor was not significant to discriminate the products. The lavender extracted using the *n*-hexane solvent is the product that differentiates the most from the rest of the products presenting a “Cut grass” odor.

### VI.3.4. Quantitative and qualitative comparison of extracts from orange peels

#### VI.3.4.1. Extraction yields

Table VI. 5 shows the extraction yields obtained from orange peels using liquefied gases, *n*-hexane and HD. As orange peels are wet materials, the extracts contained an upper organic phase containing the aromatic compounds and an aqueous phase with hydrophilic compounds. While HFO-1234ze and *n*-butane only co-extracted a little amount (some milliliters) of *in situ* water, DME almost fully dried the orange peels. In this study, only organic phases were taken into account in the extraction yield. As observed with lavender flower extracts, HFO-1234ze extraction only resulted in low yield (0.3%); DME gave the best yield (1.1%) whereas *n*-butane and *n*-hexane macerations yielded 0.7% and 0.9% respectively.

Table VI. 5 - Extraction yields obtained with HFO-1234ze, DME, *n*-butane and *n*-hexane from wet orange peels.

Solvent	T (°C)	Time	Extraction yield <sup>a</sup> (g/100 g SM)	SD
HFO-1234ze	25	4x1 h	0.3	0.1
DME	25	4x1 h	1.1	0.2
<i>n</i> -butane	25	4x1 h	0.7	0.2
<i>n</i> -hexane	25	4x1 h	0.9	0.1
water	100	2 h	0.6	0.1

SM, starting material; SD, standard deviation; <sup>a</sup> excluding aqueous phase, if any

#### VI.3.4.2. Chemical composition

The repartition of the main compounds of the orange extracts is presented in Table VI. 6. In total 134 compounds were identified with respectively 73 compounds detected in the essential oil, 71 in *n*-butane extract, 75 in *n*-hexane extract, 80 in DME extract and 59 in HFO-1234ze extract.

Table VI. 6 - Relative abundances of main compounds found in orange peels extracts recovered with different methods.

Compounds	RI <sup>a</sup>	HD (%)	<i>n</i> -butane (%)	DME (%)	HFO-1234ze (%)	<i>n</i> -hexane (%)
<b>Monoterpenes</b>		<b>83.2</b>	<b>14.4</b>	<b>75.5</b>	<b>1.9</b>	<b>1.1</b>
β-Myrcene	1145	1.9	0.2	1.5	--	--
d-Limonene	1178	80.3	13.5	73.2	1.6	0.7
β-Phellandrene	1209	0.8	--	0.7	--	--
Citronellal	1488	0.2	0.7	0.1	0.3	0.4
<b>Oxygenated monoterpenes</b>		<b>4.4</b>	<b>25.7</b>	<b>1.7</b>	<b>36.0</b>	<b>28.0</b>

Linalool	1646	1.9	12.3	1.1	12.4	9.5
Neral	1667	0.3	0.4	--	1.2	1.2
$\alpha$ -Terpineol	1688	0.8	4.5	0.1	7.0	5.1
Geranial	1715	0.4	0.4	0.1	1.7	2.0
Geranyl acetate	1711	0.1	1.0	--	--	0.2
Citronellol	1762	0.2	1.3	--	2.6	2.0
Perillaldehyde	1818	0.1	1.2	0.2	0.3	0.3
Nerol	1770	0.2	1.5	--	3.6	2.7
trans-Carveol	1839	0.1	0.9	--	1.1	0.9
cis-Carveol	1846	--	--	--	0.8	0.6
Geraniol	1847	0.2	1.3	--	2.5	1.8
Limonen-10-ol	1996	0.1	0.9	--	1.6	1.2
8-hydroxylinalool	2251	--	--	0.2	1.2	0.5
<b>Sesquiterpenes</b>		<b>1.0</b>	<b>3.4</b>	<b>2.1</b>	<b>1.8</b>	<b>1.4</b>
Isocaryophyllene	1570	--	--	1.9	--	--
Valencene	1726	1.0	3.4	0.2	1.8	1.4
<b>Oxygenated sesquiterpenes</b>		<b>0.4</b>	<b>2.4</b>	<b>1.1</b>	<b>4.6</b>	<b>5.2</b>
Caryophyllene oxide	1971	0.1	0.6	--	--	0.8
Intermedeol	2222	0.1	--	0.1	1.3	1.1
$\alpha$ -sinensal	2268	--	0.4	1.0	--	0.4
Nootkatone	2527	0.2	1.4	--	3.3	2.9
<b>Triterpenes</b>		--	<b>4.8</b>	--	<b>8.9</b>	<b>6.9</b>
Squalene	2865	--	4.8	--	8.9	6.9
<b>Fatty acids</b>		<b>0.2</b>	<b>12.8</b>	<b>0.5</b>	<b>10.1</b>	<b>12.2</b>
Linoleic acid	3157	--	8.1	--	6.2	8.4
Ethyl oleate	2445	--	1.0	0.1	--	0.2
Methyl linoleate	2485	0.2	0.9	0.1	2.5	2.1
Methyl linolenate	2590	--	1.0	--	0.4	0.5
Linoleic acid ethyl ester	2519	--	1.8	0.3	1.0	1.0
<b>Other oxygenated compounds</b>		<b>2.0</b>	<b>6.0</b>	<b>1.0</b>	<b>7.4</b>	<b>6.1</b>
<i>n</i> -Decanal	1484	1.5	2.6	0.8	1.1	1.8
1-Octanol	1553	0.4	--	0.1	2.3	1.5
Dodecanal	1710	--	--	--	0.8	0.9

1-Decanol	1765	0.1	0.6	--	0.9	0.9
Octyl formate	1554	--	2.4	--	--	--
Limonene glycol	2268	--	0.4	0.1	2.3	1.0
<b>Other hydrocarbons</b>		--	<b>3.5</b>	<b>4.5</b>	<b>6.3</b>	<b>6.9</b>
Heptacosane	2700	--	1.1	4.5	2.1	2.6
Pentacosane	2500	--	2.4	--	4.2	4.3

<sup>a</sup> Kovats retention index

Essential oil obtained by HD is mostly composed of monoterpenes (83.2%) with d-limonene being the major constituent (80.3%) followed by  $\beta$ -myrcene (1.9%), linalool (1.9%) which are known to be the most important contributors of the orange essential oil aroma [33].

DME extractions also resulted in extracts mainly composed of monoterpenes (75.5%), in particular d-limonene (73.2%), but also long-chain alkanes (4.5%) were found, such as heptacosane (C<sub>27</sub>H<sub>56</sub>), usually found on the surface of fruit peels [34]. Major aromas contributors are also found in significant amount (1.5% of  $\beta$ -myrcene, 1.1% of linalool) but also more unusual compounds such as isocaryophyllene (1.9%) or  $\alpha$ -sinensal (1.0%).

HFO-1234ze and *n*-hexane macerations gave similar relative compositions with a very low amount of d-limonene (<2%). Therefore, extracts were composed mainly of terpenoids including oxygenated monoterpenes (respectively 36.0% and 28.0%), oxygenated sesquiterpenes (4.6% and 5.2%) and triterpenes (8.9% and 6.9%). Fatty compounds were also co-extracted in significant amount in particular fatty acids and fatty acids esters (10.1% and 12.2%) and also long-chain alkanes (6.3% and 6.9%).

Finally, extracts obtained using *n*-butane resulted in a higher relative amount of monoterpenes compared with *n*-hexane extracts, in particular d-limonene (13.5% vs. 0.7%).

The low relative abundances of d-limonene observed in extracts obtained using HFO-1234ze and *n*-butane compared to DME extract and essential oil are in accordance with COSMO-RS calculations.

#### VI.3.4.3. Sensory analysis

After the sensory analysis of the orange peels extracts, the 7 experts checked in total 40 different terms. 45% of these terms were related to Fruity category, 10% to Spicy category and 10% to Woody category. Additionally, 19 terms (35%) were cited only once.

Some of these terms were cited frequently by experts. Among 40 different terms, the eleven terms that were cited the most frequently to characterize the set of 6 orange extracts were “Bitter orange”,

“Sweet orange”, “Grapefruit”, “Pepper”, “Lemon”, “Mandarin”, “Prune/Fig”, “Food alcohol”, “Dried apricot”, “Alcohol solvent / Ethanol” and “Honey”. These 11 terms corresponded to 72% of the checked terms.

Among these 11 terms, 9 terms were checked by more than 3 experts over 7 to describe a product. These terms were: “Bitter orange”, “Sweet orange”, “Grapefruit”, “Pepper”, “Lemon”, “Mandarin”, “Prune/Fig”, “Food alcohol” and “Alcohol solvent / Ethanol”.

These 9 terms were then used in order to discriminate the products based on their main common characteristics. CA and HCA analyses were carried out and the product profiles were obtained for each cluster resulting from HCA in the same way as the classic profiles. CA on the frequency-based table (frequencies x products x 9 most frequently cited terms) shows that the first four dimensions accounted for 98% of the information, from which, the first two dimensions accounted for almost 76% of the variance (respectively 47% and 28%). Further dimensions explained only a small proportion of variance (<5%).

Axis 1 represents the terms “Fig / prune” and it opposes the product “HFO-1234ze” to “*n*-butane”. Axis 2 opposes the term “Grapefruit”, “Food alcohol” and “Alcohol solvent / Ethanol” to “Mandarin”. It opposes the product “*n*-butane” versus “DME” and “HD”. The other characteristics “Pepper” figure in the third and fourth dimensions, Figure VI. 4.

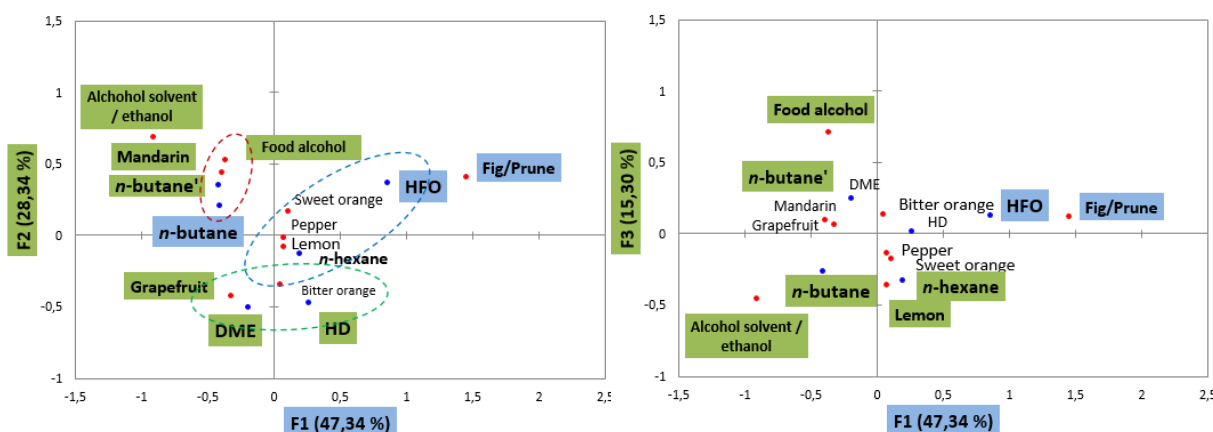


Figure VI. 4 - Sensory map for correspondence analysis of orange peels extracts.

Hierarchical Clustering Analysis was performed after CA on the chi-square distance table to help the identification of groups with similar/different sensory profiles, and give an idea of product discrimination. Three main groups; G1, G2, G3, were obtained as shown in Figure VI. 5. The groups of products were separated mainly along the first dimension of CA, mostly based on odor “Grass”.



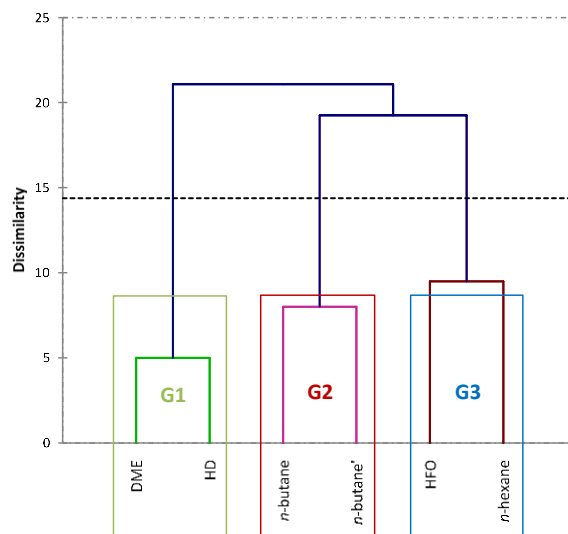


Figure VI. 5 - Dendrogram of the hierarchical cluster analysis after CA.

The groups of products were separated mainly along the first 2 dimensions of CA. HCA resulted in the same groups of products as CA.

In conclusion, the products were mainly described by “Bitter orange”, “Sweet orange”. However, we could not discriminate the products based on this descriptor. Orange peels extracted using HFO-1234ze is opposed to the products extracted using *n*-butane. The panel more efficiently evaluates the duplicate product with a slight difference on the third dimension.

#### VI.4. Conclusion and perspectives

This study was carried out to compare the performance of 3 liquefied gases – *n*-butane, DME and HFO-1234ze - as green alternative solvents to substitute hexane for extraction of natural aromatic products. The predictive COSMO-RS calculations showed that DME was better than *n*-hexane for the solubilization of many aromatic compounds. These predictions were then confirmed by experiments performed at lab-scale, as DME resulted in the best extraction yields for both lavender flowers and orange peels, regardless the water amount. The chemical compositions of the extracts obtained by liquefied gases were significantly different from essential oils obtained by hydrodistillation, with as expected more fatty compounds and less degradation products. As expected, DME extracted a wide variety of compounds, whereas *n*-butane and HFO-1234ze extractions resulted in extract compositions similar to *n*-hexane. Sensorial analysis performed on each extracts of lavender flowers and orange peels did not reveal significant differences in the olfactory perception.

As future perspectives, some crucial aspects remain to be further investigated. Are the liquefied gases truly chemically inert under the process conditions? Is the solvent recovery fully efficient, in terms of

quantity and purity? Moreover, this study was carried out using well-known and easy-to-extract plants material, but further studies should be carried out with plants more difficult to extract, for example cinnamon in which aromas are found inside the bark [35]. Finally, a life cycle assessment should be performed on liquefied gases, in particular HFO-1234ze whose production by chemical synthesis [36] and low biodegradability [37] could be a barrier for an industrial use as green alternative solvent.

## VI.5. References

1. Luffington & Associates 2012 - 2016 Flavor & Fragrance Industry Leaders. [http://www.leffingwell.com/top\\_10.htm](http://www.leffingwell.com/top_10.htm). Accessed 3 Nov 2017
2. BBC Research (2016) Global Markets for Flavors and Fragrances
3. Filly A, Fabiano-Tixier AS, Louis C, Fernandez X, Chemat F (2016) Water as a green solvent combined with different techniques for extraction of essential oil from lavender flowers. *Comptes Rendus Chimie* 19:707–717
4. Chemat F, Vian MA, Cravotto G (2012) Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. *International Journal of Molecular Sciences* 13:8615–8627
5. Chemat F, Strube J (2015) Green extraction of natural products: theory and practice. John Wiley & Sons
6. Chemat F, Vian M (2014) Alternative solvents for natural products extraction. In: Vian M (ed). Springer, Berlin, pp 205–219
7. Novello Z, Scapinello J, Magro JD, Zin G, Luccio MD, Tres MV, Oliveira JV (2015) Extraction, chemical characterization and antioxidant activity of andiroba seeds oil obtained from pressurized n-butane. *Industrial Crops and Products* 76:697–701
8. Rapinel V, Rombaut N, Rakotomanomana N, Vallageas A, Cravotto G, Chemat F (2017) An original approach for lipophilic natural products extraction: Use of liquefied n-butane as alternative solvent to n-hexane. *LWT - Food Science and Technology* 85:524–533
9. Rapinel V, Breil C, Makerri C, Jacotet-Navarro M, Rakotomanomana N, Vallageas A, Chemat F (2017) Feasibility of using liquefied gas HFO-1234ze (trans-1,3,3,3-tetrafluoroprop-1-ene) as an alternative to conventional solvents for solid–liquid extraction of food ingredients and natural products. *LWT - Food Science and Technology* 83:225–234
10. Sparks D, Hernandez R, Zappi M, Blackwell D, Fleming T (2006) Extraction of rice bran oil using supercritical carbon dioxide and propane. *Journal of the American Oil Chemists Society* 83:885–891
11. da Silva CM, Zanqui AB, Gohara AK, de Souza AHP, Cardozo-Filho L, Visentainer JV, Rovigatti Chiavelli LU, Bittencourt PRS, da Silva EA, Matsushita M (2015) Compressed n-propane extraction of lipids and bioactive compounds from Perilla (*Perilla frutescens*). *The Journal of Supercritical Fluids* 102:1–8

12. Corso MP, Fagundes-Klen MR, Silva EA, Cardozo L, Santos JN, Freitas LS, Dariva C (2010) Extraction of sesame seed (*Sesamun indicum* L.) oil using compressed propane and supercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids* 52:56–61
13. Kanda H, Li P, Goto M, Makino H (2015) Energy-saving lipid extraction from wet *Euglena gracilis* by the low-boiling point solvent dimethyl ether. *Energies* 8:610–620
14. Kanda H, Li P, Yoshimura T, Okada S (2013) Wet extraction of hydrocarbons from *Botryococcus braunii* by dimethyl ether as compared with dry extraction by hexane. *Fuel* 105:535–539
15. Hoshino R, Murakami K, . W, Machmudah S, Okita Y, Ohashi E, Kanda H, Goto M (2016) Economical wet extraction of lipid from *Labyrinthula aurantiochytrium limacinum* by using liquefied dimethyl ether. *Engineering journal* 20:146–153
16. Hoshino R, Ogawa M, Murakami K, Wahyudiono, Kanda H, Goto M (2017) Extraction of lipids from wet *Arthrospira platensis* by liquefied dimethyl ether. *Solvent Extraction Research and Development, Japan* 24:47–60
17. Paudel A, Jessop MJ, Stubbins SH, Champagne P, Jessop PG (2015) Extraction of lipids from microalgae using CO<sub>2</sub>-expanded methanol and liquid CO<sub>2</sub>. *Bioresource Technology* 184:286–290
18. Couto RM, Simões PC, Reis A, Da Silva TL, Martins VH, Sánchez-Vicente Y (2010) Supercritical fluid extraction of lipids from the heterotrophic microalga *Cryptocodium cohnii*. *Engineering in Life Sciences* 10:158–164
19. Poucher WA (1993) The production of natural perfumes. In: *Perfumes, Cosmetics and Soaps: Volume II The Production, Manufacture and Application of Perfumes*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 37–38
20. Bier MCJ, Medeiros ABP, de Oliveira JS, Côcco LC, da Luz Costa J, de Carvalho JC, Soccol CR (2016) Liquefied gas extraction: A new method for the recovery of terpenoids from agroindustrial and forest wastes. *The Journal of Supercritical Fluids* 110:97–102
21. Nenov N, Gochev V, Girova T, Stoilova I, Atanasova T, Stanchev V, Stoyanova A (2011) Low temperature extraction of essential oil bearing plants by liquefied gases. 6. Barks from cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Nees). *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 14:67–75
22. Hoshino R, Wahyudiono (2014) Simultaneous extraction of water and essential oils from citrus leaves and peels using liquefied dimethyl ether. *Journal of Nutrition & Food Sciences* 4:1–5

23. Hasan N, Farouk B (2013) Mass transfer enhancement in supercritical fluid extraction by acoustic waves. *The Journal of Supercritical Fluids* 80:60–70
24. Da Porto C, Decorti D, Kikic I (2009) Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods. *Food Chemistry* 112:1072–1078
25. Guitton Y, Nicolè F, Moja S, Benabdelkader T, Valot N, Legrand S, Jullien F, Legendre L (2010) Lavender inflorescence. *Plant Signal Behav* 5:749–751
26. Kanda H, Kamo Y, Machmudah S, Wahyudiono EY, Goto M (2014) Extraction of fucoxanthin from raw macroalgae excluding drying and cell wall disruption by liquefied dimethyl ether. *Marine drugs* 12:2383–2396
27. Chen SS, Spiro M (1995) Kinetics of microwave extraction of rosemary leaves in hexane, ethanol and a hexane + ethanol mixture. *Flavour Fragr J* 10:101–112
28. Shellie R, Mondello L, Marriott P, Dugo G (2002) Characterisation of lavender essential oils by using gas chromatography–mass spectrometry with correlation of linear retention indices and comparison with comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of Chromatography A* 970:225–234
29. Babu GK, Singh B (2010) Characteristics variation of lavender oil produced by different hydrodistillation techniques. In: *Comprehensive bioactive natural products*. Studium Press LLC, New Delhi, pp 221–135
30. Danh LT, Han LN, Triet NDA, Zhao J, Mammucari R, Foster N (2013) Comparison of Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Lavender (*Lavandula angustifolia* L.) Essential Oils Extracted by Supercritical CO<sub>2</sub>, Hexane and Hydrodistillation. *Food Bioprocess Technol* 6:3481–3489
31. Babu GDK, Thakur V, Singh B (2016) Variability in the Composition of *Lavandula angustifolia* Extracts due to Extraction Methods. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 22:173–182
32. Wintoch H, Morales A, Duque C, Schreier P (1993) (R)-(-)-(E)-2,6-Dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol 6-O-.beta.-D-glucopyranoside: Natural precursor of hotrienol from lulo fruit (*Solanum vestissimum* D.) peelings. *J Agric Food Chem* 41:1311–1314
33. Chisholm MG, Wilson MA, Gaskey GM (2003) Characterization of aroma volatiles in key lime essential oils (*Citrus aurantifolia* Swingle). *Flavour and Fragrance Journal* 18:106–115

34. Sala JM, Lafuente T, Cunat P (1992) Content and chemical composition of epicuticular wax of 'Navelina' oranges and 'Satsuma' mandarins as related to rindstaining of fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 59:489–495
35. Singh HB, Srivastava M, Singh AB, Srivastava AK (1995) Cinnamon bark oil, a potent fungitoxicant against fungi causing respiratory tract mycoses. *Allergy* 50:995–999
36. Mukhopadhyay S, Nair HK, Tung HS, Van Der Puy M (2010) Processes for synthesis of 1,3,3,3-tetrafluoropropene
37. Luecken DJ, L. Waterland R, Papasava S, Taddonio KN, Hutzell WT, Rugh JP, Andersen SO (2010) Ozone and TFA Impacts in North America from degradation of 2,3,3,3-tetrafluoropropene (HFO-1234yf), a potential greenhouse gas replacement. *Environmental Science & Technology* 44:343–348

### **Regulations**

Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products. OJ L 342, 22.12.2009, p. 59–20.

Directive 2009/32/EC of the European Parliament and of the Council of 23 April 2009 on the approximation of the laws of the Member States on extraction solvents used in the production of foodstuffs and food ingredients (amended by directives 2010/59/EU and 2016/1855/EU). OJ L 141, 6.6.2009, p. 3–11.

## Conclusion générale et perspectives

L'enjeu principal de ce travail de thèse était d'évaluer le potentiel des gaz liquéfiés comme solvants d'extraction et en particulier lorsqu'ils sont mis en œuvre selon le procédé d'extraction isobare breveté par la société Celsius. Les principaux objectifs de ce travail de thèse ont alors été d'étudier les différents gaz liquéfiés existants enfin de sélectionner ceux qui étaient le plus à même d'être utilisables à l'échelle industrielle ; de concevoir une unité d'extraction à l'échelle laboratoire pouvant mettre en œuvre les solvants sélectionnés ; d'évaluer l'apport du procédé d'extraction par gaz liquéfié par rapport aux procédés et aux solvants existants via des études théoriques (COSMO-RS) et expérimentales sur des matières premières connues ; d'identifier les marchés porteurs pour le procédé développé par la société Celsius et de proposer des axes d'amélioration sur le plan matériel ainsi que sur le procédé lui-même.

Afin d'apporter des éléments de réponse à ces problématiques, cette thèse a été bâtie autour de 3 axes principaux : la présentation de l'état de l'art sur l'utilisation des gaz liquéfiés en tant que solvant d'extraction, la conception de l'unité pilote laboratoire, puis son utilisation pour évaluer le potentiel de 3 gaz liquéfiés sélectionnés pour l'extraction de produits naturels à partir de matières végétales « modèles ».

En premier lieu, le Chapitre I a présenté une étude bibliographique sur l'utilisation des gaz liquéfiés en tant que solvant pour l'extraction du végétal. Cette étude a permis d'identifier les différents gaz liquéfiés disponibles commercialement et utilisables dans le cadre du procédé Celsius et de sélectionner 3 gaz prometteurs qui ont été utilisés par la suite de la thèse : le *n*-butane, le HFO-1234ze et l'éther diméthylque (DME). La comparaison des quelques unités d'extraction actuellement en fonction utilisant des gaz liquéfiés à l'échelle industrielle a permis de conforter notre choix d'un procédé « isobare », plus économe en énergie et compatible avec des solvants inflammables. De plus, l'étude des recherches déjà menées sur le sujet ont mis en avant plusieurs marchés potentiels pour l'extraction par gaz liquéfiés : les huiles à haute valeur ajoutée, les arômes et parfums, ainsi que les molécules bioactives. Enfin, ce travail a également permis de mieux appréhender en quoi l'utilisation des gaz liquéfiés, bien qu'elle génère de nouveaux risques en matière de sécurité et quelques incertitudes en matière de réglementation, permet également d'obtenir des produits de meilleure qualité de façon plus respectueuse de l'environnement.

Le Chapitre II décrit la méthodologie utilisée pour la conception puis la fabrication d'un équipement de laboratoire d'une capacité de 1 litre, basée sur le procédé d'extraction breveté par Celsius et sur l'équipement de 500 litres déjà existant. La construction de cet appareil a permis d'effectuer des premières séries d'essais d'extraction à l'échelle laboratoire à l'aide des 3 gaz liquéfiés sélectionnés. Ces essais ont permis de fournir un retour sur l'efficacité du procédé et de proposer des pistes



d'amélioration de l'équipement, aussi bien à l'échelle laboratoire qu'industrielle. Cette expérience a notamment conduit à la construction d'un nouvel extracteur de 200 litres plus facile d'utilisation et à optimiser l'équipement dans son ensemble en vue de la fabrication des futures unités pilotes.

Dans le Chapitre IV, le *n*-butane a été évalué comme potentiel solvant alternatif à l'hexane pour l'extraction de composés lipophiles. La comparaison de leurs propriétés physico-chimiques a montré que l'utilisation du *n*-butane était avantageuse puisqu'il permet une évaporation complète à température ambiante tout en étant non-toxique, bon marché. De plus, contrairement à l'hexane il fait partie des solvants autorisés sans limitations pour la production de denrées alimentaires dans l'Union Européenne. Parallèlement à ce comparatif, une étude par modélisation COSMO-RS a montré que le *n*-butane permettait une solubilisation équivalente à l'hexane vis-à-vis des composés lipophiles d'intérêt choisis parmi les marché potentiels (aromes, huiles et caroténoïdes). Ce constat a été confirmé par la suite grâce à une série d'extractions de graines de carvi, de graines de tournesol et de carottes. Le dosage des composés d'intérêt dans les extraits n'a montré que très peu de différences en termes de composition. Néanmoins, les résultats obtenus avec le *n*-butane ont été inférieurs à ceux obtenus avec le *n*-hexane en terme quantitatif, probablement à cause d'un manque d'agitation du solvant. Par conséquent, il a été décidé d'adapter l'équipement de laboratoire en y ajoutant un agitateur mécanique.

Dans le Chapitre V, le potentiel d'un autre gaz liquéfié, le HFO-1234ze, a été évalué pour l'extraction de produits naturels. Etant donné la nature chimique particulière du solvant, des essais ont été menés pour extraire des composés de différentes polarités (triglycérides,  $\beta$ -carotène, oleuropéine et acide carnosique notamment). Les simulations réalisées à l'aide des modèles HSP et COSMO-RS ont montré que le HFO-1234ze ne permettait de solubiliser que les composés lipophiles (triglycérides, carotènes). Ces prédictions ont été confirmées par des extractions à l'échelle laboratoire à partir de carottes, de graines de colza, de feuilles d'olivier et de romarin. Comme attendu, les rendements d'extraction obtenus à partir des feuilles d'olivier et de romarin sont très faibles, tandis que les essais menés sur les graines de colza et les carottes ont donnés de meilleurs résultats. Cependant les rendements restent faibles comparés à ceux obtenus grâce au *n*-hexane, même si l'écart a pu être réduit en procédant à des renouvellements successifs de solvant. Pour autant, les analyses effectuées sur les extraits obtenus ont montré que l'évaporation à température ambiante a permis de préserver la qualité de l'extrait, en particulier pour l'extrait de carottes. Parallèlement à cette série d'essais, il a été nécessaire d'étudier l'applicabilité de ce nouveau solvant dans le contexte actuel dans un procédé industriel. Dans le cadre d'un procédé d'extraction, il a été montré que l'utilisation du HFO-1234ze permettait de diminuer grandement l'impact environnemental, grâce notamment à une économie

d'énergie substantielle par rapport aux solvants usuels et un recyclage quasi-complet du solvant permettant d'obtenir immédiatement un extrait sans traces de solvants et une matière première directement valorisable. Malheureusement, malgré son innocuité et son caractère non-inflammable, qui sont des avantages indéniables, il ne figure pas encore dans la liste des solvants autorisés pour l'extraction de denrées alimentaires dans l'UE, ce qui limite principalement son utilisation à des applications en parfumerie.

Enfin, le Chapitre VI de cette thèse a été consacré à une étude comparative entre 3 gaz liquéfiés (*n*-butane, HFO-1234ze et DME) et le *n*-hexane dans le cadre d'une extraction de composés aromatiques. Cette étude comparative a été l'occasion d'observer l'influence du taux d'humidité de la matière première sur le rendement d'extraction de chaque solvant, en sélectionnant une matière sèche (fleurs de lavande vraie) et une matière fraîche (écorces d'orange). L'étude prédictive menée à l'aide de COSMO-RS, concernant la composition qualitative des extraits ont été confirmés par la suite par des extractions sur le pilote laboratoire : le *n*-butane permet d'obtenir des extraits de composition en composés aromatiques similaire à celui obtenu avec le *n*-hexane ; le HFO-1234ze permet d'extraire des composés aromatiques sans pour autant extraire les composés cireux, considérés comme indésirables ; le DME permet d'extraire un large spectre de composés, aussi bien apolaires (cires, terpènes...) que polaires (alcools gras, terpènes oxygénés...). Comparativement à une huile essentielle obtenue par hydrodistillation, les extraits collectés contiennent moins de composés de dégradation, et notamment de composés d'hydrolyse dont certains, même s'ils participent à la perception olfactive de l'extrait, sont reconnus comme étant allergènes (ex : linalool). Les résultats des rendements d'extraction obtenus à 30 °C sont logiquement en faveur du DME, peu sélectif, suivi du *n*-butane et du *n*-hexane, puis du HFO-1234ze plus sélectif vis-à-vis des composés aromatiques. Par ailleurs, une analyse par microscopie électronique à balayages des glandes sécrétrices d'huile essentielle des fleurs de lavande a mis en évidence que : la pression générée par les gaz liquéfiés lors de l'extraction n'impacte pas l'intégrité structurale de la matière première ; seul le DME permet une vidange totale des glandes, à l'instar d'une extraction par hydrodistillation classique à 100 °C. Enfin, afin d'évaluer le potentiel de l'extraction par gaz liquéfié pour l'industrie de la parfumerie, il a été essentiel de comparer les extraits du point de vue olfactif. Les analyses sensorielles réalisées par l'ISIPCA n'ont révélé aucunes différences significatives entre les extraits. Le choix du solvant d'extraction a utilisé va donc surtout avoir une influence sur la cinétique d'extraction et sur la teneur en composés gras, plutôt que sur l'odeur.

En résumé, ces travaux de thèse ont permis de montrer que l'extraction par gaz liquéfiés :

- Est une alternative viable en comparaison à l'hexane pour l'extraction de composés lipophiles et volatils ;
- Permet de préserver la qualité de l'extrait obtenu ;
- Permet un recyclage quasi-complet (>99,99%) du solvant et évite ainsi la présence de traces dans l'extrait et la matière première épuisée, diminuant ainsi le nombre d'étapes de post-traitements ;
- Est un procédé facilement adaptable à l'échelle industrielle (> 1 m<sup>3</sup>), en particulier en fonctionnement isobare ;
- Permet une diminution des besoins énergétiques du procédé d'extraction ;
- Est en adéquation avec les principes de l'éco-extraction.

Les différents résultats obtenus dans cette thèse soulèvent plusieurs points qui pourraient faire l'objet de futures recherches :

- Les dernières séries d'essais menées à l'échelle laboratoire ont mis en lumière le potentiel de l'éther diméthyle (DME) comme solvant d'extraction car il permet d'extraire une large gamme de composés apolaires ou moyennement polaires et ce même à partir de matières premières humides. En outre, il est possible de le produire de façon industrielle à partir de biomasse ce qui permet de pérenniser sa disponibilité sur le long terme.
- L'étude du cycle de vie des gaz liquéfiés, en s'intéressant en particulier à leur synthèse et à leur dégradation en fin de vie. Dans le cas des gaz d'origine pétrolière ou chimique, il sera important de rechercher des voies de synthèses alternatives en adéquation avec les principes de la chimie verte.
- Une étude plus poussée sur l'étape de recyclage du solvant, afin de s'assurer de la qualité du solvant distillé et si nécessaire de mettre en œuvre des moyens pour augmenter l'efficacité de la distillation.
- Des essais portant sur l'adjonction de co-solvants (eau, éthanol...) pour permettre l'extraction de composés plus polaires ou d'augmenter la sélectivité de l'extraction.
- La mise en place de nouveaux modes de fonctionnements, par exemple une extraction en régime semi-continu voire continue ou encore passer à une opération liquide/liquide. Il sera également intéressant d'investiguer la possibilité de mettre en œuvre des extractions réactives ou tout simplement d'utiliser les gaz liquéfiés en tant que solvants de réaction, notamment des réactions enzymatiques.

# Liste des figures et tableaux

Figure 0. 1 - Objectifs du projet de thèse.....	17
Figure 0. 2 - Extraction par n-butane de produits naturels.....	19
Figure 0. 3 - Extraction par HFO-1234ze de composés naturels.....	20
Figure 0. 4 – Extraction d’arômes à l’aide de 3 gaz liquéfiés .....	21
Figure I. 1 - Gaz liquéfié stocké dans une bouteille sous pression.....	24
Figure I. 2 - Courbes de pression de vapeur des gaz liquéfiés compatibles .....	29
Figure I. 3 - (A) Structures chimiques des principaux gaz liquéfiés utilisés en extraction (B) Répartition de la densité de charge ( $\sigma$ -surfaces) (C) $\sigma$ -potentiels des gaz liquéfiés et de quelques molécules d’intérêts .....	31
Figure I. 4 - Schéma de principe simplifié de l'extraction solide-liquide selon un procédé avec compresseur .....	33
Figure I. 5 - Cheminement du solvant tétrafluoroéthane (R134a) lors d’un procédé d’extraction végétale selon un procédé avec un compresseur .....	34
Figure I. 6 - Unité industrielle d'extraction de 2x500 litres fonctionnant selon un procédé avec compresseur (crédits : TecnoLab s.r.l.) .....	35
Figure I. 7 - Cheminement du CO <sub>2</sub> lors d’un procédé d’extraction par fluide supercritique ..	36
Figure I. 8 - Schéma de principe simplifié de l'extraction solide-liquide selon un procédé non-isobare .....	38
Figure I. 9 - Cheminement du solvant tétrafluoroéthane (R134a) lors d’un procédé d’extraction végétale selon un procédé isobare .....	39
Figure I. 10 - Unité industrielle d'extraction de 500 litres fonctionnant selon un procédé isobare (crédits : Celsius s.a.r.l.) .....	40
Figure I. 11 - Modes de transfert des gaz liquéfiés : (I) transfert gravitaire (II) transfert par pompage (III) transfert par surpression .....	41
Figure I. 12 - Répartition des références en fonction des solvants utilisés (gauche) et des composés cibles (droite) entre 1950 et 2018.....	41

Figure I. 13 - Pilotes d'extraction par gaz liquéfiés d'une capacité de 1 Litre et 500 Litres (Plateforme d'Eco-Extraction de Valréas, France).....	42
Figure I. 14 - Unité d'extraction de 2000 Litres d'extraction de pyrèthre (crédit : TecnoLab S.r.l.) .....	46
Figure I. 15 - Empreintes écologiques de procédés d'extraction d'arômes par macération à l'aide de différents solvants .....	52
Figure II. 1 - NECTACEL 500 extraction unit .....	59
Figure II. 2 - ISO standards piping elements used for vessels design.....	60
Figure II. 3 - Manufacturing process .....	61
Figure II. 4 - NECTACEL 1 manufacturing process .....	64
Figure II. 5 - Manufacturing of the 200L extractor.....	66
Figure III. 1 - Dried carrots ( <i>Daucus carota</i> L.) cubes .....	69
Figure III. 2 - Sunflower ( <i>Helianthus annuus</i> L.) seeds .....	69
Figure III. 3 - Caraway ( <i>Carum carvi</i> L.) seeds.....	70
Figure III. 4 - Olive ( <i>Olea europaea</i> L.) leaves.....	70
Figure III. 5 - Rosemary ( <i>Rosmarinus officinalis</i> L.) leaves .....	70
Figure III. 6 - Rapeseeds ( <i>Brassica napus</i> L.).....	71
Figure III. 7 - Lavender ( <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.) flowers .....	71
Figure III. 8 - Orange ( <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck) peels .....	71
Figure III. 9 – $\sigma$ -surfaces of some common solvents, liquefied gases and natural compounds used in this study.....	75
Figure III. 10 - (A) NECTACEL® 1 - Tailor-made extraction-unit for extractions using liquefied gases as solvent: 0, liquefied gas bottle; 1, valve; 2, manometer; 3, safety valve; 4, solvent storage tank; 5, double jacketed stainless steel extractor; 6, pneumatic stirrer; 7, thermometer; 8, double jacketed stainless steel evaporator; 9, stainless steel condenser; 10, Heated bath circulator; 11, Cooling bath circulator – (B) 1-liter extraction unit	

---

manufactured by Celsius Sarl (Villette de Vienne, France) .....	77
Figure V. 1 - (A) Extraction kinetics of rapeseed oil extracted with HFO-1234ze at 30 °C (triangles) and n-hexane at 30 °C (diamonds) and 68 °C (squares) - (B) Effect of HFO-1234ze renewals on the extraction yield at 20 °C (light blue) and 30 °C (dark blue) .....	111
Figure VI. 1 - Lavender flowers observed by SEM (zoom x300) ; (A) raw material, (B) after extraction with HFO-1234ze, (C) after extraction with n-butane, (D) after extraction with n-hexane, (E) after extraction with DME, (F) after HD. ....	127
Figure VI. 2 - Sensory map for correspondence analysis of lavender extracts. ....	131
Figure VI. 3 - Dendrogram of the hierarchical cluster analysis after CA. ....	131
Figure VI. 4 - Sensory map for correspondence analysis of orange peels extracts. ....	135
Figure VI. 5 - Dendrogram of the hierarchical cluster analysis after CA. ....	136

Tableau I. 1 - Comparaison des propriétés de quelques gaz liquéfiés communs.....	27
Tableau I. 2 - Comparaison des gammes de densité, viscosité et coefficient d'autodiffusion pour les gaz liquéfiés, les liquides usuels, les gaz et les fluides supercritiques d'après [2–4].....	30
Tableau I. 3 - Comparaison de solubilités relatives [ $\log(x_{\text{solub}})$ ] de composés dans les gaz liquéfiés en comparaison au n-hexane (données établies à 30°C) .....	32
Tableau I. 4 - Exemples d'extractions de produits naturels.....	45
Table II. 1 – Vessels specifications.....	62
Table III. 1 - List of solvents used for experiments.....	72
Table III. 2 - List of solvents used for analysis .....	72
Table III. 3 - List of reagents used for analysis .....	73
Table III. 4 - List of standards used for analysis.....	73
Table III. 5 - Operating conditions used for liquefied gas extractions .....	78
Table IV. 1 - Comparison of technical properties of n-hexane and n-butane (Sources: ACD-Labs / Air liquide).....	91
Table IV. 2 - COSMO-RS: relative solubility $\log(x_{\text{solub}})$ of solutes in n-hexane and n-butane at 25 °C.....	92
Table IV. 3 - Extraction yield and fatty acid composition of sunflower oil extracted with n-hexane and n-butane.....	93
Table IV. 4 - Extraction yield and the relative abundance of carvone and limonene in each extract.....	94
Table IV. 5 - Extraction yield and composition of carrot oleoresin obtained with n-hexane and n-butane. ....	95
Table V. 1 - Comparison of technical properties of extraction solvents.....	107
Table V. 2 - The relative energy difference (RED) values for HSP. ....	109
Table V. 3 - COMSO-RS relative solubility values, $\log(x_{\text{solub}})$ at 40 °C.....	110



---

Table V. 4 - Fatty acid composition of rapeseed oil extracted with HFO-1234ze and n-hexane. ....	112
Table V. 5 - Extraction yield and composition of carrot oleoresin obtained with HFO-1234ze and n-hexane. ....	113
Table V. 6 - Extraction yield and composition of olive leaves extracts obtained with HFO-1234ze and a mixture ethanol/water. ....	114
Table V. 7 - Extraction yield and composition of rosemary leaves extracts obtained with HFO-1234ze and acetone. ....	114
Table VI. 1 - Comparison of technical properties of liquefied gases vs. n-hexane. ....	123
Table VI. 2 - COMSO-RS relative solubility values - $\log(x_{\text{solub}})$ - at 25 °C for major compounds found in lavender and orange peels extracts. ....	125
Table VI. 3 - Extraction yields obtained with HFO-1234ze, DME, n-butane and n-hexane from lavender flowers. ....	126
Table VI. 4 - Relative abundances of compounds found in lavender flowers extracts recovered with different solvents. ....	128
Table VI. 5 - Extraction yields obtained with HFO-1234ze, DME, n-butane and n-hexane from wet orange peels. ....	132
Table VI. 6 - Relative abundances of main compounds found in orange peels extracts recovered with different methods. ....	132

## ❖ Les gaz liquéfiés comme solvants alternatifs pour l'éco-extraction de produits naturels.

### Résumé

Depuis quelques années, le domaine de l'extraction végétale est en pleine mutation, avec à la fois un intérêt croissant des consommateurs pour des ingrédients d'origine naturelle, combiné à des préoccupations environnementales. Il apparaît dès lors indispensable de remplacer les procédés actuels utilisant des solvants pétrochimiques nocifs par de nouveaux procédés d'extraction réduisant le besoin énergétique, la toxicité du solvant et la quantité de déchets tout en s'assurant du rendement et de la qualité de l'extrait obtenu. L'objectif de cette thèse a donc consisté à développer un nouveau procédé d'extraction mettant en œuvre des gaz liquéfiés comme solvants.

Ce manuscrit présentera tout d'abord l'état de l'art sur les gaz liquéfiés existants et leur mise en œuvre pour l'extraction des produits naturels. A l'issue de cette présentation, 3 gaz liquéfiés ont été sélectionnés (*n*-butane, HFO-1234ze et le DME) comme solvants pour mener des essais au laboratoire, grâce à un prototype dont la conception est détaillée dans le Chapitre II.

Dans un second temps, les essais réalisés à l'aide de ces gaz liquéfiés pour l'extraction de composés lipophiles ont été décrits. L'approche expérimentale a été couplée à une approche prédictive par l'utilisation d'outils d'aide à la décision : les paramètres de solubilité de Hansen et le modèle COSMO-RS. La prédiction théorique ainsi que les essais expérimentaux ont confirmé l'intérêt des gaz liquéfiés pour la solubilisation et l'extraction de composés lipophiles d'intérêt biologique et à haute valeur ajoutée. Parallèlement l'étude des impacts du procédé sur l'environnement, la qualité, la réglementation et la sécurité ont montré que l'extraction par gaz liquéfié était un procédé facilement transposable à l'échelle industrielle.

## ❖ Liquefied gases as alternative solvents for green extraction of natural products.

### Abstract

In recent years, the industrial sector of vegetable extraction has been evolving due to the growing interest of consumers for natural food ingredients combined with growing environmental concerns. Therefore, it seems essential to replace existing processes using toxic petroleum bases solvents with greener extraction processes with lower energy consumption, less wastes but higher extract quality. The objective of this thesis has consisted in the research and development of a new extraction process using liquefied gases as liquid solvents.

First, this manuscript will outline the state of the art on the liquefied gases and how they are used for extraction of natural products. After this survey, 3 liquefied gases (*n*-butane, HFO-1234ze and DME) have been selected for laboratory scale experiments performed using a dedicated extraction unit whose design is detailed in Chapter II.

Then, the tests performed with these 3 gases for extraction of lipophilic compounds from several plant materials has been described. The experimental approach has been combined with a predictive one using decision tools: Hansen Solubility Parameters and COSMO-RS model. This survey demonstrated that liquefied gases are interesting solvents for solubilization and extraction of lipophilic compounds of interest. In parallel, the impacts of the process on environment, safety regulation and quality showed that liquefied gas extraction could be easily transposed at industrial scale.