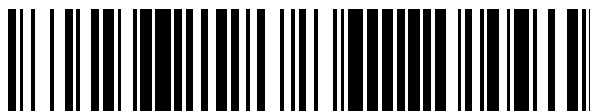


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 775 617**

51 Int. Cl.:

A61K 36/00 (2006.01)

B01D 11/02 (2006.01)

A23L 33/105 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.10.2016 PCT/FR2016/052643**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.04.2017 WO17064424**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.10.2016 E 16794376 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 3362078**

54 Título: **Nuevo disolvente de extracción y/o solubilización orgánico, procedimiento de extracción que usa dicho disolvente, y extractos procedentes de dicho procedimiento**

30 Prioridad:

14.10.2015 FR 1559749

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

27.07.2020

73 Titular/es:

NATUREX (SOCIÉTÉ ANONYME) (50.0%)

250 rue Pierre Bayle, BP 81218

84911 Avignon, FR y

UNIVERSITÉ D'AVIGNON ET DES PAYS DE VAUCLUSE (ETABLISSEMENT PUBLIC) (50.0%)

72 Inventor/es:

ROMBAUT, NATACHA;

FABIANO TIXIER, ANNE-SYLVIE;

BIRTIC, SIMONA;

BILY, ANTOINE, CHARLES;

ROLLER, MARC y

CHEMAT, FARID

74 Agente/Representante:

PADIAL MARTÍNEZ, Ana Belén

ES 2 775 617 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Nuevo disolvente de extracción y/o solubilización orgánico, procedimiento de extracción que usa dicho disolvente, y extractos procedentes de dicho procedimiento

Introducción

5 La presente invención se refiere a un nuevo disolvente de extracción y/o solubilización orgánico que comprende al menos un 99% de para-metano, un procedimiento de extracción que usa dicho disolvente, y los extractos procedentes de dicho procedimiento.

Más particularmente, la invención se refiere a una nueva utilización del para-metano, compuesto terpenoide monocíclico saturado, como disolvente derivado de sustancias naturales, y tiene por objetivo igualmente un disolvente que comprende el para-metano.

La invención tiene por objeto igualmente definir un procedimiento de extracción y solubilización que usa dicho disolvente, particularmente en los procedimientos de extracción de líquido/líquido o sólido/líquido, así como los extractos procedentes de la implementación de este procedimiento.

15 El disolvente según la invención se puede utilizar para la extracción y/o la solubilización de material biológico vegetal y/o animal y/o procariota.

Preferentemente, dicho disolvente se usará para la extracción y la solubilización de compuestos naturales activos a partir de un extracto vegetal o de materias vegetales de origen natural.

20 Los compuestos activos naturales son moléculas procedentes de una materia vegetal que tiene una actividad de interés biológico y tecnológico. Estos compuestos activos naturales pueden estar en forma pura o estar contenidos en extractos. Los compuestos activos naturales forman parte de la categoría de los pigmentos, que comprenden los carotenoides y las clorofilas, de los aromas, que comprenden los terpenos, y de los aceites vegetales, que comprenden los triglicéridos o los fosfolípidos. Estos compuestos activos se pueden utilizar en aplicaciones alimenticias, cosméticas, farmacéuticas y nutracéuticas.

25 El documento FR 2.892.933 se refiere a un extracto vegetal obtenido por un procedimiento de extracción en una sola fase, con la ayuda de un disolvente y/o una mezcla de disolventes de origen vegetal cuyos constituyentes están caracterizados y químicamente definidos, caracterizado por que está exento de polifenol, antociano y/o tanina y que comprende una fracción de compuestos de carácter lipófilo y/o una fracción de compuestos de carácter polar. Se refiere igualmente a un procedimiento que permite obtener un extracto según la invención.

30 El documento US 5.938.859 se refiere a una mezcla de disolventes que comprende el bromuro de n-propilo, una mezcla de disolventes de bajo punto de ebullición y, preferiblemente, un aditivo de desfluxado y/o eliminación iónica y/o al menos un terpeno saturado.

Estado de la técnica anterior

35 La expresión «compuestos naturales» hace referencia a diferentes categorías de compuestos bioquímicos. Aparte de los cuerpos grasos vegetales, estos compuestos están presentes habitualmente en cantidad reducida en las matrices vegetales. Se distinguen así varias categorías de compuestos naturales según su naturaleza química:

- los pigmentos: pueden estar presentes en forma de cadenas carbonadas parcialmente hidroxiladas y que contienen un ciclo aromático. Los pigmentos lipófilos se pueden obtener por concentración de extractos obtenidos de los vegetales denominados oleorresinas. Los pigmentos se diferencian en función de su color, por ejemplo: los carotenoides (color amarillo, naranja o rojo), los antocianos (color rojo a violeta, incluso azul), las xantofilas y los curcuminoides (color amarillo), las clorofilas (color verde) y la ficocianina (color azul).

40 - los aromas: esta categoría de compuestos hace referencia a compuestos volátiles presentes en los aceites esenciales, los concretos y absolutos de flores, por ejemplo. Las moléculas de tipo terpénicas (su estructura química está compuesta por un ciclo aromático que contiene agrupaciones hidroxilas) representan una gran parte de los aromas. Los perfiles aromáticos de las plantas están dominados por algunos terpenos en función de vegetales. Por ejemplo, el aceite esencial de albahaca está compuesto principalmente por linalol, estragol, eugenol y metil-eugenol.

45 - los aceites vegetales: estas mezclas contienen compuestos que tienen por estructura química principal una cadena carbonada, que va de manera clásica de 14 a 20 átomos de carbono (las unidades que componen los cuerpos grasos se denominan ácidos grasos), y una fracción insaponificable (lípidos polares, esteroides, etc.). Los aceites vegetales son compuestos lipófilos y los extractos que contienen cuerpos grasos tienen forma de aceite o de materia vegetal de grasa sólida que contiene triglicéridos o fosfolípidos.

50 Para la obtención de compuestos naturales, la implementación más practicada es la extracción de sólido/líquido. Existen varios procedimientos usuales de extracción de sólido/líquido, tales como la maceración, la percolación, la lixiviación, la decocción. Tradicionalmente, estos procedimientos usan el agua y el etanol para la obtención de

extractos naturales. Sin embargo, estos disolventes permiten solubilizar principalmente compuestos hidrófilos con una selectividad débil.

Se utilizan otros disolventes para una extracción más selectiva. Los disolventes más utilizados en la extracción de sustancias naturales son los disolventes orgánicos tales como el hexano, el metanol, el diclorometano y la acetona. Estos disolventes son sustancias muy eficaces que disuelven los solutos sólidos y líquidos, y su volatilidad facilita su eliminación al final del procedimiento. Sin embargo, los disolventes orgánicos son también, en un buen número de ellos, inflamables, muy volátiles y tóxicos (cancerígenos, mutágenos, etc.). Se han realizado ya varios trabajos sobre sus efectos nocivos (Baldasseroni et al., 2003; Manini et al., 2004). Por otro lado, la reducción progresiva de los recursos petroleros y las restricciones reglamentarias crecientes incitan a orientarse hacia disolventes alternativos. Así, numerosos estudios tienen por objetivo, más particularmente, el reemplazo del hexano por otros disolventes que permiten obtener un rendimiento de extracción equivalente y que son menos nocivos.

En efecto, el hexano es una molécula clasificada en la categoría de las moléculas de tipo «Cancerígeno, mutágeno y reprotóxico» (CMR) de clase 3 (lista CMR UB), o como molécula reprotóxica. Las características fisicoquímicas del hexano hacen que su manipulación sea peligrosa. El hexano posee un punto de destello bajo (23,3 °C) y una temperatura de autoinflamación de 233,9 °C.

Para reemplazar al hexano, se han propuesto diferentes disolventes.

Los aceites vegetales se pueden utilizar como disolvente de extracción de compuestos no volátiles. El enriquecimiento de los aceites está limitado entonces por la solubilidad de los extractos vegetales en el aceite, no permitiendo nada más que una extracción parcial de los compuestos naturales contenidos en los vegetales tratados. Los agrodisolventes de tipo metil-THF se han utilizado para la extracción (Sicaire et al., 2014), sin embargo, la principal restricción industrial descansa sobre la reactividad del 2-metil-THF con los materiales plásticos.

Se han propuesto otros agrodisolventes de tipo terpénicos, obtenidos a partir de coproductos de la industria agroalimentaria, para la extracción de compuestos naturales. Los disolventes terpénicos, tales como el limoneno o el alfa-pineno (por ejemplo, el documento WO 2007/057349 A2), pueden tener una reactividad química debido a la presencia de dobles enlaces. Thomas y Bessièrè (1989) indican que existen numerosas transformaciones del limoneno a continuación de las reacciones químicas, por ejemplo de tipo ácido-básicas, epoxidaciones, hidrogenaciones y oxidaciones. Por lo tanto, el limoneno constituye una especie reactiva en solución. Las transformaciones del limoneno implican una modificación de su estructura por redistribución y reacción de los dobles enlaces con otras especies químicas presentes en solución.

Se conoce de Karlberg et al., (1992), que el limoneno expuesto al aire experimenta reacciones de autooxidación que conducen a la formación de derivados oxigenados de tipo hidroperóxidos. Estos compuestos formados serían además alergénicos. Además, la reacción de autooxidación de los terpenoides (tales como el limoneno, el timol, el citral y el alfa-pineno, por ejemplo) genera la producción de radicales libres (Turek y Stintzing, 2013). Los mismos pueden reaccionar con los compuestos objetivo de extracción que conducen a su degradación.

Para paliar los inconvenientes de los compuestos terpénicos que contienen dobles enlaces, sería posible considerar un análogo terpénico que no contuviera dobles enlaces. Varios equipos de químicos mencionan la obtención de una molécula denominada para-metano (1-isopropil-4-metilciclohexano, figura 1) por hidrogenación catalítica (patente US 2013/0281747 A1 de Chirik et al., 2013, Li et al., 2014, Shuikin y Cherkashin, 1957).

El para-metano ha sido el objeto de varias menciones en diferentes patentes.

El para-metano se ha mencionado para aplicaciones químicas, particularmente como compuesto formado en el transcurso de reacciones o como reactivo. Así, en la patente US 2400012 A, se describe un procedimiento de obtención del para-cimeno por deshidrogenación catalítica. Esta reacción genera la formación de una mezcla compuesta por para-cimeno y para-metano. En esta invención, el para-metano formado se reutiliza con fines de reciclaje en la reacción de deshidrogenación. El para-metano se utiliza en otra invención (US2302463 y US2302468) en reacción en fase líquida con el oxígeno. Se describe en la misma una reacción que tiene por objetivo la conversión del para-metano a fin de obtener alcoholes, aldehídos, cetonas y ácidos. Un procedimiento de sulfurización de los terpenos se describe en la patente US2537297. La sulfurización tiene lugar sobre las mezclas de terpenos, de las que puede formar parte el para-metano. En la patente US2597372, se describe la obtención de ciclopentanos hidrocarbonados y de bencenoides hidrocarbonados por reacción del para-metano y el isocanfano en presencia de un catalizador de tipo paladio. Así, estas invenciones relatan la presencia del para-metano en las reacciones químicas de transformación y no se refieren a las propiedades de solvatación del para-metano frente a compuestos de interés natural.

El para-metano se ha propuesto como componente de una mezcla para la eliminación de tintas (JP2005023196). La utilización de mezclas para la limpieza que contienen, entre otros, el para-metano se ha descrito por la firma Refining Oils en varias patentes (US20040102351, US20040238006 y US6872263). Los inventores han descubierto entonces una formulación de un agente de limpieza que comprende un compuesto terpénico monocíclico saturado y un agente tensioactivo no iónico. La utilización de esta mezcla se realiza por inyección en una fase vapor que circula en los conductos y recipientes a limpiar. En una última patente de Refining Oils (US20110056694), se describe un

método para eliminar las parafinas y los betunes en los procedimientos de refinado de petróleo. El agente de limpieza descrito está compuesto por para-metano con o sin aditivo de tipo agente tensioactivo. El espectro de acción de este agente tiene por objetivo los compuestos apolares no naturales de peso molecular muy alto y funciona además en un proceso que utiliza esta mezcla en el estado de vapor. Una formulación a base de terpenos, próxima a las patentes anteriormente citadas, se da a conocer en la patente EP 0781842 A2. Esta última patente describe una mezcla de limpieza no líquida compuesta del 90% al 96,5% de un compuesto halogenado (n-propil bromuro), del 0 al 6,5% de compuestos terpénicos y del 3,5 al 5% de compuestos de bajo punto de ebullición. Este agente de limpieza químico se utiliza en fase vapor a temperaturas alrededor de 70 °C para disolver los aceites minerales, los aceites de siliconas o los metales. En todas estas invenciones, que tienen por objetivo describir procedimientos de limpieza, no se ha tenido en cuenta la utilización del para-metano para la extracción y la solubilización de compuestos naturales obtenidos a partir de materias naturales vegetales.

Así, el para-metano se ha mencionado para aplicaciones químicas o como componente de mezclas en procedimientos de limpieza. Persiste todavía una necesidad de la identificación de disolventes alternativos que sustituyan al hexano, que permitan realizar extracciones o solubilizar específicamente compuestos naturales objetivo, obteniendo al mismo tiempo rendimientos al menos idénticos.

Objeto de la presente invención

La presente invención se refiere a un nuevo disolvente de extracción y/o solubilización orgánico que comprende al menos un 99% de para-metano, un procedimiento de extracción que usa dicho disolvente, y los extractos procedentes de dicho procedimiento.

La figura 1 muestra la estructura química del disolvente según la invención (1-isopropil-4-metilciclohexano (para-metano)).

En un modo preferido de realización, la presente invención tiene por objetivo definir una nueva utilización, del para-metano, como disolvente de extracción de material biológico vegetal y/o animal y/o procariota, y de manera preferida, como disolvente de extracción a partir de matrices vegetales de origen natural o disolvente de solubilización de compuestos naturales. En particular, los inventores han descubierto que el para-metano se puede usar en procedimientos de extracción y solubilización de las principales categorías de compuestos biológicos naturales tales como los lípidos, los antioxidantes, los aromas y las fragancias, los colorantes.

Entre los compuestos naturales de interés que se pretenden, existe la categoría de las moléculas olorosas de tipo terpénicas, que entran en la composición de aceites esenciales, de colorantes de tipo carotenoides, clorofilas u otros compuestos colorantes lipófilos y de ácidos grasos. El disolvente según la invención se puede utilizar para la extracción en conjunto de estas moléculas en forma de extractos vegetales presentes en las materias vegetales de origen natural. Así, los extractos pueden ser aromas naturales, oleorresinas, aceites o cuerpos grasos de origen vegetal.

De manera más detallada, los compuestos biológicos naturales comprenden: los ácidos grasos, los lípidos, los aceites, los compuestos saponificables, los compuestos insaponificables, los fitosteroles, los fenoles, los tocoferoles, los tocotrienoles, las vitaminas E, las vitaminas, los monoterpenos, los diterpenos, los triterpenos y los compuestos de tipo terpenoides saturados o insaturados, los compuestos aromáticos, los aromas y modificadores del sabor, los perfumes, las fragancias, los compuestos olorosos, los aceites esenciales, los sesquiterpenos, los compuestos fenólicos incluyendo los ácidos, ésteres fenólicos y compuestos monofenólicos, los flavonoides, los taninos, las cumarinas, los estilbenos, los lignanos, los secoiridoides, las isoflavonas, los ácidos fíticos, los alcoholes fenólicos, así como las saponinas, los antioxidantes, los carotenoides, las clorofilas, las xantofilas, los curcuminoides, las betalaínas, los colorantes, los pigmentos, los alcaloides, los fenilpropanoides, los biocidas, los antimicrobianos, las proteínas y las enzimas.

La invención tiene así por objetivo una nueva utilización del para-metano como disolvente de extracción, obteniéndose dicho disolvente a partir de materia prima natural, con el objetivo de implementar un procedimiento de extracción más respetuoso con el medio ambiente, permitiendo al mismo tiempo obtener rendimientos de extracción equivalentes a los obtenidos con el hexano.

El disolvente según la invención se puede así emplear para la extracción y la solvatación de compuestos biológicos naturales de interés presentes en fase líquida o contenidos, por ejemplo, en una matriz vegetal de origen natural.

El para-metano constituye un esqueleto de base de los terpenoides que componen los aceites esenciales u otros compuestos olorosos. Los inventores han observado que el para-metano se puede encontrar en el estado de traza en ciertas plantas. Así, una de las características buscadas de un disolvente es que dicho disolvente sea lo más inerte posible y no sea reactivo en solución, a no ser durante el procedimiento de extracción o durante su almacenamiento en un tanque. Un disolvente compuesto por moléculas que no contienen dobles enlaces, tal como el disolvente según la invención, responde a esta restricción.

En efecto, el experto en la técnica sabe que los alcanos (tal como el para-metano) poseen una cadena carbonada saturada muy estable, con enlaces σ , que es muy difícil romper sin tener que recurrir a condiciones extremas de

temperatura y presión en presencia de catalizadores específicos. También sabe que los alcanos son menos estables y más reactivos a causa de la presencia de insaturaciones: la presencia de uno o varios dobles enlaces π forma un doble enlace más reactivo y menos estable que el enlace σ .

5 El disolvente de extracción y/o solubilización de material biológico vegetal y/o animal y/o procariota según la invención está caracterizado por que comprende al menos un 99% de para-metano. En tal caso, las impurezas y los compuestos iniciadores de la reacción de oxidación representan, dentro del disolvente según la invención, menos de un 1%.

10 En los modos de extracción particulares, puede ser necesario obtener un extracto en forma pura. La eliminación del disolvente según la invención se requiere entonces para obtener extractos exentos de disolvente. Dicho disolvente se puede eliminar por diferentes procedimientos:

- por evaporación al vacío: en este modo de realización, la inyección de etanol o agua al disolvente según la invención permitirá la formación de un azeótropo y conducirá así a la evaporación a temperatura más baja que el punto de ebullición de dicho disolvente solo;

- por destilación molecular a alto vacío.

15 Además, al estar el disolvente según la invención compuesto por una molécula inerte, se puede reciclar fácilmente para otras extracciones, sin que exista la formación de compuestos de oxidación.

20 La presente invención se refiere igualmente a un procedimiento de extracción de compuestos activos procedentes de materiales biológicos, particularmente de origen vegetal, en una sola fase. En efecto, los inventores han descubierto que el disolvente según la invención se puede usar para la extracción y la solubilización de compuestos termosensibles. De manera sorprendente, los rendimientos de extracción son próximos a los obtenidos con el hexano, y el disolvente según la invención permite una solubilización ilimitada de compuestos puros miscibles. Además, el uso de dicho disolvente se puede realizar a baja temperatura.

25 El procedimiento de extracción según la invención es perfectamente compatible con la extracción de compuestos biológicos naturales tales como los compuestos fenólicos incluyendo los fenoles, los ácidos y ésteres fenólicos, los compuestos monofenólicos, los flavonoides, los taninos, las cumarinas, los estilbenos, los lignanos, los secoiridoides, las isoflavonas, los ácidos fítics, los alcoholes fenólicos, así como los antioxidantes, los carotenoides, los alcaloides, los fenilpropanoides, los monoterpenos, los diterpenos, los triterpenos y los compuestos de tipo terpenoides saturados o insaturados, los sesquiterpenos, los aromas y modificadores del sabor, los aceites esenciales, los perfumes, las fragancias, los compuestos olorosos, los compuestos aromáticos, los biocidas, los antimicrobianos, las proteínas, las enzimas, las clorofilas, las xantofilas, los curcuminoides, las betalainas, los colorantes, los pigmentos, y los fitosteroles, los ácidos grasos, los tocoferoles, los tocotrienoles, las vitaminas E, las vitaminas, los lípidos, los aceites, los compuestos saponificables, los compuestos insaponificables, que comprenden las saponinas.

35 Este proceso de extracción está caracterizado por un procedimiento, que comprende las etapas sucesivas siguientes:

(a) puesta en contacto de un material o una matriz biológica vegetal y/o animal y/o procariota, triturado o no, con el disolvente tal como se describe en la invención y/o una mezcla de este disolvente con otros disolventes, luego,

(b) separación del material o de la matriz biológica vegetal y/o animal y/o procariota sólida residual,

40 (c) luego, eliminación parcial, incluso completa, del disolvente tal como se describe en la invención y/o de la mezcla de este disolvente con otros disolventes.

De manera preferida, la extracción se efectuará a partir de una matriz o un material vegetal de origen natural.

En otro modo de realización, el disolvente según la invención se puede utilizar para solubilizar más específicamente los compuestos lipófilos o parcialmente polares en operaciones de extracción de líquido/líquido.

45 Los párrafos a continuación describen, de manera de ningún modo limitativa, un ejemplo detallado de implementación del procedimiento de extracción según la invención.

50 La extracción se realiza a partir de materia prima de origen vegetal que proviene de diferentes partes de un vegetal. Puede tratarse de granos, de rizomas, de raíces, de tubérculos, de tallos, de hojas, de flores, de cortezas. La totalidad o las partes de un vegetal pueden constituir el objeto de una extracción, solas o en mezcla. Para la preparación del vegetal, puede tratarse de cualquier operación unitaria que tenga por objetivo favorecer la extracción, tal como el secado, la trituración, el aplastado o el flocado.

Para el uso en los procedimientos de extracción, el disolvente según la invención se puede utilizar en forma pura o en mezcla con otros disolventes que sean miscibles con el mismo. Las partes siguientes describen con detalle el procedimiento de extracción que constituye el objeto de la presente invención.

En la etapa (a):

5 El disolvente según la invención se puede utilizar en las operaciones usuales de extracción de matrices vegetales de origen natural, operaciones tales como la maceración (con o sin medio de agitación mecánica), la percolación, la lixiviación, así como en los procedimientos de extracción con ayuda de tecnologías innovadoras tales como los ultrasonidos y las microondas.

10 La materia vegetal estará preferiblemente bajo una forma triturada, para presentarse en forma de fragmento de una granulometría fina a media, de manera que se facilita la etapa de extracción. La materia vegetal fresca tendrá ventajosamente un contenido de agua del 40 al 90%, preferiblemente del 80 al 90%, en masa.

15 La relación de sólido vegetal/líquido puede estar comprendida entre 1/1 a 1/50 (en masa por volumen) y preferiblemente a 1/20 en masa por volumen. La temperatura de extracción puede estar comprendida entre 20 °C y 150 °C. Sin embargo, para los compuestos activos de origen natural, se utilizan preferentemente temperaturas moderadas para no alterar la estructura de estos compuestos. Entonces, la temperatura estaría comprendida ventajosamente entre 40 y 60°C. La duración de extracción es función del material vegetal tratado. La duración de extracción puede estar comprendida entre 5 minutos y varias horas. Los inventores no han observado ninguna modificación del disolvente (cambio de aspecto o de propiedades) después de 6 horas de extracción. La operación de extracción puede tener lugar a presión atmosférica, así como a presiones superiores a la presión atmosférica, de manera que se realizan extracciones presurizadas. Así, el disolvente según la invención se puede usar en operaciones o procedimientos unitarios que funcionan a una presión igual o superior a la presión atmosférica.

En la etapa (b):

25 Las materias residuales sólidas se eliminan del disolvente por un procedimiento de separación de sólido/líquido. Esta etapa se podrá realizar por filtración para recuperar el disolvente según la invención enriquecido con compuestos de interés extraídos.

En la etapa (c):

El disolvente según la invención se puede eliminar del extracto solubilizado por diferentes procedimientos:

30 - por evaporación al vacío; en este modo de realización, la inyección de etanol o agua al disolvente según la invención permitirá la formación de un azeótropo y conducirá así a la evaporación a temperatura más baja que el punto de ebullición del disolvente solo, según la invención;

- por destilación molecular a alto vacío.

35 A la salida de esta etapa, se obtiene un extracto exento de disolvente. Además, el disolvente según la invención, recuperado a continuación de la extracción, permanece estable porque no comprende ningún doble enlace. Su punto de ebullición elevado (168°C) implica igualmente una volatilidad muy inferior a la del hexano. Las pérdidas de disolventes se minimizan así con el disolvente según la invención.

La invención se refiere igualmente a los extractos que se obtienen a la salida de la implementación del procedimiento de extracción con el disolvente según la invención.

40 Estos extractos se podrán utilizar para la fabricación de una composición nutricional, o de un producto dietético o alimenticio, o de un complemento nutricional, o de una composición farmacéutica o de una composición cosmética, destinado a una administración, según el caso, por vía oral o parenteral, o a una aplicación por vía tópica.

El disolvente según la invención permite solubilizar y extraer compuestos que presentan un carácter lipófilo o parcialmente polares. Así, el perfil de los compuestos extraídos con este disolvente puede diferir del hexano o de cualquier otro tipo de disolvente apolar. El extracto obtenido con el disolvente según la invención presentará por lo tanto un perfil único. Este último punto se podrá ilustrar en los ejemplos que siguen.

45 Así, se ha demostrado en esta invención, el interés de la utilización de un nuevo disolvente compuesto por paracetano con pureza de un 99%. La extracción y la solubilización de compuestos objetivo naturales por el disolvente según la invención son eficaces a temperaturas moderadas. Se hace entonces posible la extracción de compuestos termosensibles; por ejemplo, tales como las moléculas olorosas de tipo terpénicas, que entran en la composición de aceites esenciales, de colorantes de tipo carotenoides, clorofilas u otros compuestos colorantes lipófilos y de ácidos grasos.

Además, la estructura química del disolvente le confiere una estabilidad de reacción y demuestra capacidades de extracción y solubilización similares al hexano. Por último, debido al punto de ebullición elevado del disolvente según

la invención, la utilización del mismo lleva a pérdidas de disolvente menos importantes que con el hexano. Así, los ejemplos que ilustran el uso del disolvente según la invención se detallan en las secciones siguientes.

Materiales y métodos

5 Los extractos líquidos obtenidos se analizan directamente por cromatografía para cuantificar los compuestos bioactivos naturales presentes en solución después de la extracción.

Dosificación del beta-caroteno

10 La identificación y la cuantificación del beta-caroteno se realizan por Cromatografía Líquida de alta eficacia (HPLC). Para ello, se utiliza un estándar analítico (beta-caroteno, UV>98%, extrasíntesis, referencia 0303 S), y se establece una recta de calibración. El aparato HPLC (Agilent 1100) está equipado con un detector de matriz de diodos. La elución se realiza en condiciones isocráticas a 25 °C, para la fase móvil compuesta por la mezcla de acetoneitrilo/metanol (con el 0,6% de acetato de amonio)/diclorometano (77/20/3, v/v/v). Los disolventes son de calidad HPLC. La columna utilizada es de tipo C18 (150 x 3,0 mm - 3 µm). La detección del beta-caroteno se realiza a 464 nm.

Dosificación de los ácidos grasos en el aceite de colza

15 La identificación y la cuantificación de los ácidos grasos en el aceite de colza se realizan por Cromatografía en fase gaseosa (GC). El aparato utilizado (GC 3800 VARIAN) está equipado con un detector FID. La columna utilizada es de tipo DB23, 60 m x 0,25 mm, con una película de espesor de 0,25 µm. La columna está colocada en un horno sometido a una temperatura inicial de 120 °C durante 5 min. La temperatura se aumenta a 200 °C (a 5 °C/min), luego se mantiene durante 1 min. Por último, la temperatura se aumenta a 230 °C (a 2°/min), luego se mantiene durante 15 min. El gas vector es el helio a una presión constante de 30 psi.

20 La inyección de la muestra se realiza a 250°C, con una escisión de 1 x 50. La detección se realiza al nivel de un detector FID a 300°C. Los ácidos grasos presentes se identifican por comparación de los tiempos de retención de una mezcla de estándares de ácidos grasos (Supelco 37 componente FAME mix, Sigma-Aldrich, ref. CMR47885). Los compuestos presentes se dan a conocer en tanto por ciento relativo expresado con relación al total de los compuestos detectados.

Dosificación de los compuestos aromáticos del aceite esencial de albahaca

30 La identificación de los compuestos aromáticos contenidos en el aceite esencial de albahaca se realiza por Cromatografía en fase gaseosa (GC). El aparato utilizado (GC 7890 Agilent) está equipado con un detector FID. La columna utilizada es de tipo VF-MAX, 30 m x 0,25 mm, con una película de espesor de 0,25 µm. Se utiliza la rampa de temperatura siguiente del horno en el que está colocada la columna (tabla 1). El gas vector es el helio a un caudal constante de 1,1 ml/min.

Tabla 1

Temperatura (°C)	Aumento (°C/min)	Tiempo de mantenimiento de temperatura (min)	Tiempo total (min)
60	0,0	1,0	1
240	3,0	5,0	66

35 La inyección de la muestra se realiza a 250°C, con una escisión de 1 x 100. La detección se realiza al nivel de un detector FID a 250°C. Los compuestos presentes se dan a conocer en tanto por ciento relativo expresado con relación al total de los compuestos detectados.

Los ejemplos que siguen permiten ilustrar la implementación de la presente invención.

Ejemplos

40 Ejemplo 1: Solubilidad del beta-caroteno en el disolvente definido en la invención, en comparación con la solubilidad del beta-caroteno en el hexano.

45 La solubilidad del beta-caroteno se compara en dos disolventes: en el hexano, por un lado, y en el disolvente según la invención, por otro lado. Para cada disolvente evaluado, 20 mg de beta-caroteno, de pureza superior o igual al 97% se ponen en contacto con 1 ml de disolvente. El conjunto se coloca en un matraz a rotación constante a una velocidad de 200 rpm a 25 °C durante 1 h. La mezcla se centrifuga a continuación para hacer precipitar el beta-caroteno que no se ha solubilizado en el disolvente ensayado. La concentración de beta-caroteno en la fase superflotante así obtenida se determina por HPLC a una longitud de onda de 464 nm. La concentración de beta-caroteno (expresada en tanto por ciento másico) en el hexano es del 0,101% y la concentración de beta-caroteno en el disolvente según la invención es del 0,102%.

Ejemplo 2: Solubilidad de la carvona en el disolvente definido en la invención, en comparación con la solubilidad de la carvona en el hexano.

- 5 La solubilidad de la carvona se compara en dos disolventes: en el hexano, por un lado, y en el disolvente según la invención, por otro lado. Para cada disolvente evaluado, 1 ml de carvona, de pureza superior o igual al 99%, se pone en solución con 1 ml de disolvente. El conjunto se coloca en un matraz a rotación constante a una velocidad de 200 rpm a 25 °C durante 1 h. Después de la fase de agitación, la mezcla de carvona-hexano y de carvona-disolvente según la invención se compara visualmente (tabla 3).

Tabla 3

	Solubilización de la carvona en el hexano	Solubilización de la carvona en el disolvente según la invención
Examen visual	completo	completo

- 10 El disolvente según la invención permite una solubilización total de la carvona a una relación de 1/1 y 2/1 (volumen/volumen): no se observó ninguna separación de fases.

Ejemplo 3: Solubilidad del linalol en el disolvente definido en la invención, en comparación con la solubilidad del linalol en el hexano.

- 15 La solubilidad del linalol se compara en dos disolventes: en el hexano, por un lado, y en el disolvente según la invención, por otro lado. Para cada disolvente evaluado, 1 ml de linalol, de pureza superior o igual al 97%, se pone en solución con 1 ml de disolvente. El conjunto se coloca en un matraz a rotación constante a una velocidad de 200 rpm a 25 °C durante 1 h. Después de la fase de agitación, la mezcla de linalol-hexano y de linalol-disolvente según la invención se compara visualmente (tabla 4).

Tabla 4

	Solubilización del linalol en el hexano	Solubilización del linalol en el disolvente según la invención
Examen visual	completo	completo

- 20 El disolvente según la invención permite una solubilización total del linalol a una relación de 1/1 y 2/1 (volumen/volumen): no se observó ninguna separación de fases.

Ejemplo 4: Solubilidad del limoneno en el disolvente definido en la invención, en comparación con la solubilidad del limoneno en el hexano.

- 25 La solubilidad del limoneno se compara en dos disolventes: en el hexano, por un lado, y en el disolvente según la invención, por otro lado. Para cada disolvente evaluado, 1 ml de limoneno, de pureza superior o igual al 93%, se pone en solución con 1 ml de disolvente. El conjunto se coloca en un matraz a rotación constante a una velocidad de 200 rpm a 25 °C durante 1 h. Después de la fase de agitación, la mezcla de limoneno-hexano y de limoneno-disolvente según la invención se compara visualmente (tabla 5).

- 30 Tabla 5

	Solubilización del limoneno en el hexano	Solubilización del limoneno en el disolvente según la invención
Examen visual	completo	completo

El disolvente según la invención permite una solubilización total del limoneno a una relación de 1/1 y 2/1 (volumen/volumen): no se observó ninguna separación de fases.

- 35 Ejemplo 5: Solubilidad del estragol en el disolvente definido en la invención, en comparación con la solubilidad del estragol en el hexano.

- 40 La solubilidad del estragol se compara en dos disolventes: en el hexano, por un lado, y en el disolvente según la invención, por otro lado. Para cada disolvente evaluado, 1 ml de estragol, de pureza superior o igual al 98%, se pone en solución con 1 ml de disolvente. El conjunto se coloca en un matraz a rotación constante a una velocidad de 200 rpm a 25°C durante 1 h. Después de la fase de agitación, la mezcla de estragol-hexano y de estragol-disolvente según la invención se compara visualmente (tabla 6).

Tabla 6

	Solubilización del estragol en el hexano	Solubilización del estragol en el disolvente según la invención
Examen visual	completo	completo

El disolvente según la invención permite una solubilización total del estragol a una relación de 1/1 y 2/1 (volumen/volumen): no se observó ninguna separación de fases.

- 5 Ejemplo 6: Solubilidad del aceite de colza en el disolvente definido en la invención, en comparación con la solubilidad del aceite de colza en el hexano.

La solubilidad del aceite de colza se compara en dos disolventes: en el hexano, por un lado, y en el disolvente según la invención, por otro lado. Para cada disolvente evaluado, 1 ml de aceite de girasol se pone en solución con 1 ml de disolvente. El conjunto se coloca en un matraz a rotación constante a una velocidad de 200 rpm a 25 °C durante 1 h.

- 10 Después de la fase de agitación, la mezcla de aceite de girasol-hexano y de aceite de girasol-disolvente según la invención se compara visualmente (tabla 7).

Tabla 7

	Solubilización del aceite de girasol en el hexano	Solubilización del aceite de girasol en el disolvente según la invención
Examen visual	completo	completo

- 15 El disolvente según la invención permite una solubilización total del aceite de girasol a una relación de 1/1 y 2/1 (volumen/volumen): no se observó ninguna separación de fases.

Ejemplo 7: Extracción de aceite de colza a partir de granos de colza según la invención, en comparación con un método de extracción que utiliza el hexano.

Los granos de colza (*Brassica napus L.*) contienen del 35 al 45% de aceite. El perfil de ácido graso del aceite de colza industrial está dominado por el ácido oleico (C18:1, aproximadamente el 60%, g por 100 g).

- 20 La extracción se realiza por maceración de 2 g de granos de colza, previamente triturados, en 20 ml del disolvente según la invención (relación de material vegetal/disolvente: 1/10). La maceración se realiza a 50 °C, durante 6 h, en un matraz a rotación constante de 200 rpm. Las partículas vegetales sólidas son separadas del disolvente de extracción por filtración. Para obtener muestras de volumen idéntico y comparar los extractos, el filtrado se introduce en una redoma, luego, el volumen se completa hasta 20 ml con el disolvente de origen. El mismo procedimiento de extracción se puede efectuar con el hexano (disolvente de referencia).
- 25

El perfil de los ácidos grasos del aceite de colza, extraído según este procedimiento, se analiza por Cromatografía en fase gaseosa acoplada a un Detector por ionización de llama. Los resultados se presentan en la tabla 8. Las proporciones de ácidos grasos presentes en el extracto están indicadas en g por 100 g.

Tabla 8

naturaleza del ácido graso	hexano	Disolvente según la invención
ácido palmítico (C16:0%)	4,6	4,7
ácido esteárico (C18:0%)	1,76	0
ácido oleico (C18:1%)	58,19	58,97
ácido linoleico (C18:2%)	19,23	19,79
ácido linolénico (C18:3%)	7,16	6,6
ácido gadoleico (C20:1%)	2,1	0

- 30 Para los ácidos grasos mayoritarios, el aceite extraído por el disolvente según la invención presenta una proporción equivalente a la extraída en el hexano.

Ejemplo 8: Extracción de compuestos olorosos a partir de hojas de albahaca según la invención.

- 35 Las hojas de albahaca contienen el aceite esencial que se caracteriza por la presencia de compuestos terpénicos mayoritarios tales como el linalol, el estragol, el eugenol y el metil eugenol.

La extracción se realiza por maceración de 2 g de hojas de albahaca, previamente trituradas, en 20 ml del disolvente según la invención (relación de material vegetal/disolvente: 1/10). La maceración se realiza a 50 °C, durante 6 h, en un matraz a rotación constante de 200 rpm. Las partículas vegetales sólidas son separadas del disolvente de extracción por filtración. Para obtener muestras de volumen idéntico y comparar los extractos, el filtrado se introduce en una redoma, luego, el volumen se completa hasta 20 ml con el disolvente de origen.

El perfil de los compuestos terpénicos obtenido por análisis de Cromatografía en fase gaseosa acoplada a un Detector por ionización de llama se presenta en la tabla 9. Las proporciones de compuestos terpénicos presentes en el extracto están indicadas en g por 100 g.

Tabla 9

naturaleza del compuesto	Disolvente según la invención
limoneno (%)	0,70
eucaliptol (%)	0,97
trans-b-ocimeno (%)	0,10
alcanfor (%)	0,33
linalol (%)	3,69
bergamoteno (%)	0,10
b-cariofileno (%)	0,19
terpinen-4-ol (%)	0,35
estragol (%)	7,25
metil eugenol (%)	0,49
tau-cadinol (%)	0,90
eugenol (%)	0,14

El disolvente según la invención permite la extracción de compuestos olorosos presentes en las hojas de albahaca.

Ejemplo 9: Simulación COSMO-RS y propiedades físicas del disolvente

La aproximación de simulación se realiza con el programa informático COSMO-RS (figura 1: σ -perfil del hexano y del p-metano). La molécula se sumerge en un conductor perfecto, lo que genera una distribución de carga alrededor de la molécula.

La figura 2 muestra el σ -perfil del hexano y del p-metano.

Esta distribución de carga se segmenta y se reduce a un histograma, denominado σ -perfil. El σ -perfil permite caracterizar una molécula, en su estado de energía más estable. Los σ -perfiles del hexano y del p-metano son semejantes. Sus σ -perfiles proporcionan un doble pico ancho centrado en $\sigma = 0$, es decir, que no poseen momentos electrostáticos. Los dos picos resultan de la contribución de los átomos de hidrógeno ($\sigma < 0$) y de la contribución de los carbonos ($\sigma > 0$). No existe una gran diferencia entre el perfil del hexano y el del p-metano, aparte de una pequeña diferencia de altura de los picos, que se debe a su número de carbono y de hidrógeno respectivos.

La figura 3 muestra el σ -potencial del hexano y del p-metano.

El cálculo de los σ -potenciales (figura 2) tiene en cuenta las interacciones moleculares dos a dos, lo que permite caracterizar un disolvente. En este caso, los σ -potenciales son parábolas centradas en $\sigma = 0$, esto expresa el hecho de que los alcanos no tienen ninguna afinidad por las densidades de cargas positivas o negativas, lo que traduce su carácter apolar. La superposición de los dos potenciales permite calcular el índice relativo de similitud entre las dos curvas. A 25 °C, las dos moléculas son semejantes en un 95%. El disolvente según la invención parece ser un disolvente prometedor para reemplazar al hexano, que se utiliza tradicionalmente en el campo de la extracción.

Por último, los datos fisicoquímicos se comparan en la tabla 10 (estos datos se han obtenido por simulación a partir del programa informático ACD/lab).

Tabla 10

	n-hexano	p-metano
Fórmula bruta	C ₆ H ₁₄	C ₁₀ H ₂₀
Densidad	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1
Temperatura de ebullición (°C)	68,5 ± 3,0	168,2 ± 7,0
Presión de vapor a 25 °C (mm Hg)	150,9 ± 0,1	2,2 ± 0,1

Entalpía de vaporización (kJ/mol)	28,9	38,8 ± 0,8
Punto de destello (°C)	-23,3	44,7 ± 11,7
Índice de refracción	1,384	1,431
Log P	3,94	5,25
Volumen molar (cm ³)	127,6 ± 3,0	178,6 ± 3,0
Tensión superficial (dina/cm)	20,3 ± 3,0	23,9 ± 3,0

5 El punto de destello del disolvente según la invención es más elevado que el del hexano; así, el disolvente según la invención presenta una inflamabilidad menor que la del hexano. Además, los dos disolventes se distinguen principalmente por su temperatura de ebullición y su presión de vapor. El hexano se evapora a temperatura más baja que el disolvente según la invención. La temperatura de ebullición del disolvente según la invención está próxima a la de los compuestos terpénicos (168 °C), y es posible evaporar el disolvente según la invención;

- por evaporación al vacío: en este modo de realización, la inyección de etanol o agua al disolvente según la invención permitirá la formación de un azeótropo y conducirá así a la evaporación a temperatura más baja que el punto de ebullición del disolvente solo, según la invención;

10 - por destilación molecular a alto vacío.

Además, el disolvente según la invención, recuperado a continuación de la extracción, permanece estable porque no comprende ningún doble enlace. Su punto de ebullición elevado (168 °C) implica igualmente una volatilidad muy inferior a la del hexano. Las pérdidas de disolventes se minimizan así con el disolvente según la invención.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de extracción de compuestos biológicos naturales que usa un disolvente que comprende al menos un 99% de para-metano.
- 5 2. Procedimiento de extracción de compuestos biológicos naturales que usa el disolvente según la reivindicación 1, cuyo procedimiento comprende las etapas siguientes:
 - (a) puesta en contacto de un material o una matriz biológica vegetal y/o animal y/o procariota, triturado o no, con dicho disolvente y/o una mezcla del mismo con otros disolventes, luego,
 - (b) separación del sólido residual del material o de la matriz biológica vegetal y/o animal y/o procariota,
 - (c) luego, eliminación parcial o completa de dicho disolvente y/o de la mezcla del mismo con otros disolventes.
- 10 3. Procedimiento de extracción de compuestos biológicos naturales según la reivindicación 1 o 2, en el que la matriz biológica o el material puesto en contacto con el disolvente es un material o una matriz biológica vegetal de origen natural.
4. Utilización de un disolvente que comprende al menos un 99% de para-metano para extraer y/o solubilizar compuestos biológicos naturales.
- 15 5. Utilización según la reivindicación 4, en la que los compuestos biológicos naturales se eligen del grupo constituido por los ácidos grasos, los lípidos, los aceites, los compuestos saponificables, los compuestos insaponificables, los fitosteroles, los fenoles, los tocoferoles, los tocotrienoles, las formas de vitamina E, las vitaminas, los monoterpenos, los diterpenos, los triterpenos y los compuestos de tipo terpenoides saturados o insaturados, los compuestos aromáticos, los aromas y modificadores del sabor, los perfumes, las fragancias, los compuestos olorosos, los aceites esenciales, los sesquiterpenos, los compuestos fenólicos incluyendo los ácidos, ésteres fenólicos y compuestos monofenólicos, los flavonoides, los taninos, las cumarinas, los estilbenos, los lignanos, los secoiridoides, las isoflavonas, los ácidos fítics, los alcoholes fenólicos, así como las saponinas, los antioxidantes, los carotenoides, las clorofilas, las xantofilas, los curcuminoides, las betalainas, los colorantes, los pigmentos, los alcaloides, los fenilpropanoides, los biocidas, los antimicrobianos, las proteínas y las enzimas.
- 20 6. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que los compuestos biológicos naturales se eligen del grupo constituido por los ácidos grasos, los lípidos, los aceites, los compuestos saponificables, los compuestos insaponificables, los fitosteroles, los fenoles, los tocoferoles, los tocotrienoles, las formas de vitamina E, las vitaminas, los monoterpenos, los diterpenos, los triterpenos y los compuestos de tipo terpenoides saturados o insaturados, los compuestos aromáticos, los aromas y modificadores del sabor, los perfumes, las fragancias, los compuestos olorosos, los aceites esenciales, los sesquiterpenos, los compuestos fenólicos incluyendo los ácidos, ésteres fenólicos y compuestos monofenólicos, los flavonoides, los taninos, las cumarinas, los estilbenos, los lignanos, los secoiridoides, las isoflavonas, los ácidos fítics, los alcoholes fenólicos, así como las saponinas, los antioxidantes, los carotenoides, las clorofilas, las xantofilas, los curcuminoides, las betalainas, los colorantes, los pigmentos, los alcaloides, los fenilpropanoides, los biocidas, los antimicrobianos, las proteínas y las enzimas.
- 30 7. Extracto biológico natural procedente de material biológico vegetal y/o animal y/o procariota obtenido por la implementación del procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
- 35 8. Utilización de un extracto según la reivindicación 7 para la fabricación de una composición nutricéutica, o de un producto dietético o alimenticio, o de un complemento nutricional, o de una composición farmacéutica o de una composición cosmética, destinado a una administración por vía oral o parenteral, o a una aplicación por vía tópica.
- 40

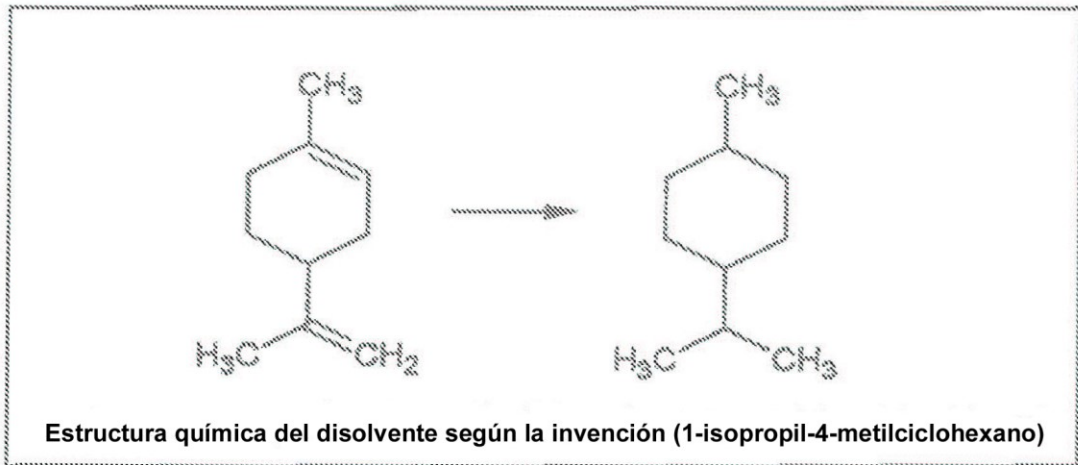


Figura 1

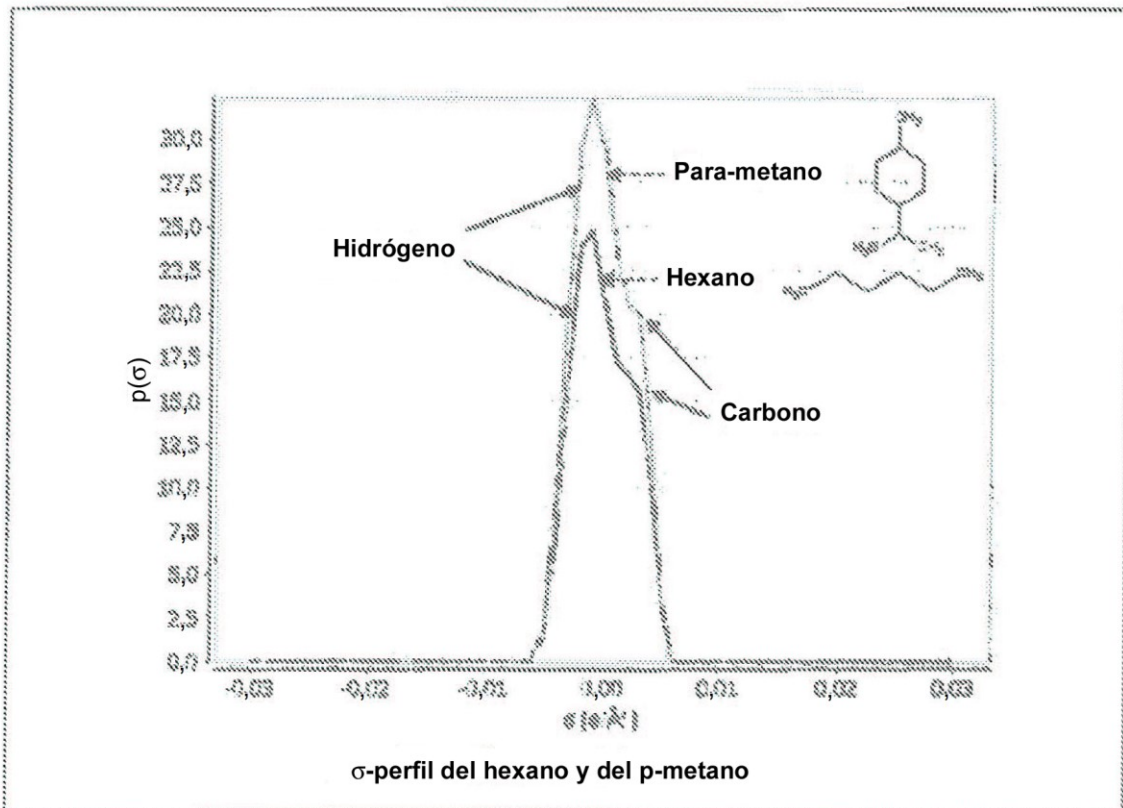


Figura 2

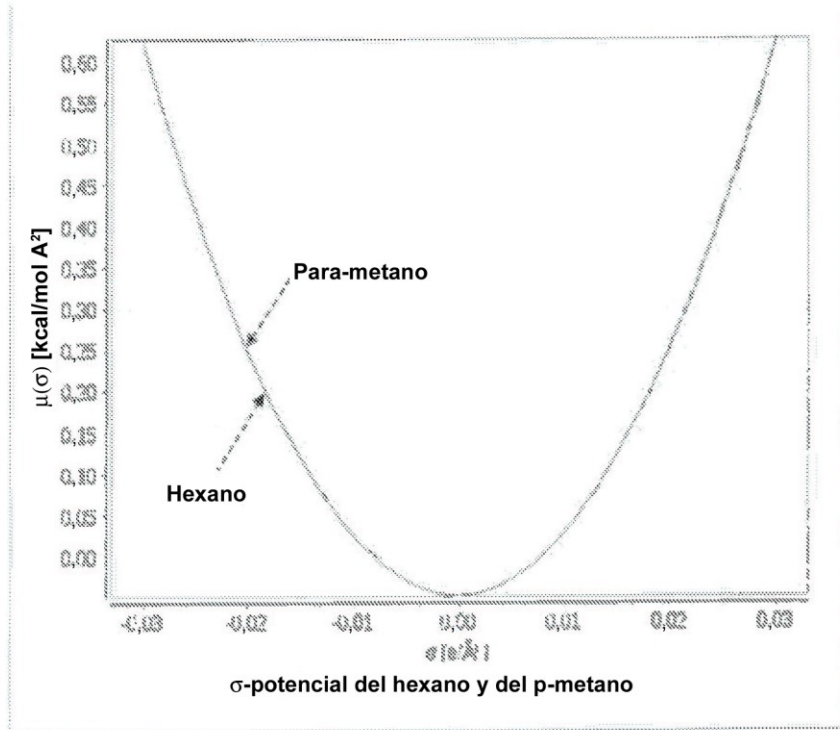


Figura 3