

Usage des microondes pour l'extraction et la fonctionnalisation de molécules naturelles ou biosourcées

Résumé Face aux méthodes de chauffage traditionnelles, l'irradiation microondes permet un apport énergétique rapide pour un chauffage instantané. Les solvants organiques nécessaires peuvent être éliminés, substitués par un milieu aqueux, des solvants biosourcés ou renouvelables... Ces propriétés en font un procédé qui répond parfaitement aux critères de la « chimie verte ». Cet article présente deux exemples de l'usage de ce procédé avec des matériaux biosourcés : l'extraction de saponines à partir de noix de lavage et leurs applications à la préparation de latex, et la modification chimique d'un polysaccharide, le chitosane. Le premier exemple rend compte de l'efficacité des microondes en termes de temps et de rendement dans l'extraction de molécules biosourcées, ici un tensioactif. Ce dernier, testé dans la synthèse de latex, remplace avantageusement les tensioactifs non ioniques de type alkylphénol éthoxylés dont les produits de dégradation peuvent être reconnus comme substances prioritaires au titre de la directive-cadre sur l'eau. Le second exemple met en avant le procédé microondes pour une modification efficace du chitosane avec une grande optimisation des temps de réaction.

Mots clés Chimie durable, microondes, matériaux biosourcés, chimie verte.

Abstract Using microwaves to extract and functionalize natural or bio-based molecules

Faced with traditional heating techniques, microwave irradiation allows quick energy supply for instantaneous heating. Usual organic solvents may be suppressed, replaced by aqueous media, bio-based or renewable solvents... These properties allow this process perfectly answering the "green chemistry" criteria. Two examples on using this process with bio-based materials are presented: the extraction of saponins from soap nuts and their applications to latex preparation, and the chemical modification of a polysaccharide, the chitosan. The first example reports the efficiency of microwaves in terms of time and yield during the extraction of bio-based molecules, a surfactant. The latter, tested for the synthesis of latex, usefully replaces non-ionic ethoxylated polyphenols-like surfactants of which degradation products may be known as priority substances in accordance with the European directive on water. The second one highlights the process to efficiently modify chitosan with a strong optimisation of reaction times.

Keywords Sustainable chemistry, microwaves, bio-based materials, green chemistry.

Tout en respectant les douze principes de la chimie verte, la conception et la promotion de nouveaux produits et procédés chimiques à faibles impacts environnementaux ne doivent pas oublier l'équité sociale et la croissance économique. Dans ce cadre, les procédés microondes ont été considérés comme un des outils majeurs dès les années 1990 en se basant sur l'économie d'énergie (6^e principe), et ce n'est qu'une dizaine d'années plus tard que des études argumentées ont été décrites en associant à ces procédés la réduction des produits dérivés ou de solvants par une meilleure sélectivité (5^e et 8^e principes).

Les microondes n'ont été adoptées par les chimistes qu'après le développement de réacteurs permettant le contrôle de paramètres tels que la puissance d'irradiation, la température et la pression, et leur utilisation doit prendre en compte plusieurs facteurs pour en tirer bénéfice vis-à-vis des procédés classiques. Ce sont des ondes électromagnétiques (0,3 à 300 GHz) qui se propagent dans le vide, l'air et les autres gaz, traversent les matières plastiques et le verre et sont réfléchies par les métaux. Elles sont capables d'entraîner la rotation de molécules sans modifier leur structure. Les molécules polarisées ou chargées oscillent en suivant le champ des ondes, provoquant ainsi leur rotation à l'origine de la friction responsable d'un échauffement local du matériau. Le chauffage par microondes se fait donc au cœur de la matière, contrairement au chauffage traditionnel (bain d'huile, réacteur double enveloppe...) Dans le cadre de nos activités, ce procédé écoresponsable a été utilisé

pour l'extraction de tensioactifs biosourcés [1] et la fonctionnalisation de molécules naturelles [2].

Des saponines au latex

Les tensioactifs, connus aussi sous le terme de surfactants, sont utilisés dans un grand nombre d'applications allant des produits de soin de la personne aux produits d'entretien ménager en passant par divers secteurs industriels (industrie textile, métallurgique et minière...). Ils sont agents moussants, émulsifiants, antiseptiques... et font partie de la liste des contaminants et/ou polluants de nos eaux douces et marines [3-4]. Les tensioactifs sont des molécules amphiphiles ioniques, zwitterioniques ou non ioniques. Parmi ces derniers, les nonylphénols éthoxylés, exclusivement de source anthropique, ont largement été médiatisés car ils sont maintenant reconnus comme des perturbateurs endocriniens et ont des effets néfastes sur les écosystèmes aquatiques [5]. À ce titre, ils ont été inscrits sur la liste des substances extrêmement préoccupantes en 2013 par l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA). Prenant en considération les critères de toxicité, écotoxicité et biodégradabilité, le développement des bio-tensioactifs, préparés à partir de composés d'origine végétale, est en forte croissance avec plus de 120 kt de produits consommés chaque année.

Les saponines sont des tensioactifs totalement biosourcés offrant des propriétés tensioactives et fongicides. Elles

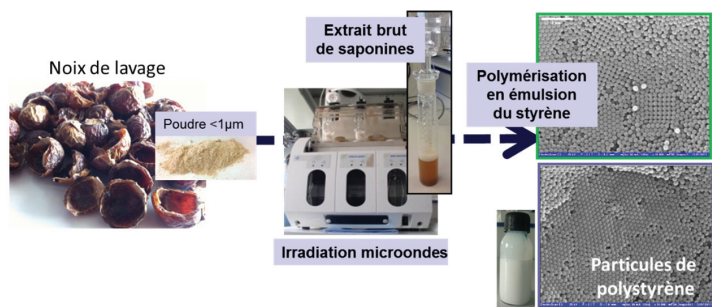


Figure 1 - Saponines : de leur extraction sous microondes à la synthèse de particules de polystyrène.

rentrent actuellement dans la composition de vaccins [6], cosmétiques [7], compléments alimentaires et autres produits de santé [8]. Notre étude a testé leur utilisation dans la stabilisation de latex et nos travaux ont validé l'utilisation de saponines comme bio-tensioactifs pour la polymérisation du styrène en émulsion. Les latex de polymères répondent à une large gamme d'applications (peintures et revêtements pour le papier et le carton, adhésifs et produits d'étanchéité [9]...). Dans un contexte de développement durable, les saponines ont été extraites des noix de *sapindus* – aussi appelées noix de lavage – sous irradiation microondes en milieu aqueux et les propriétés tensioactives ont été caractérisées. Notre stratégie évite ensuite toute étape de purification ou d'utilisation de solvant organique et utilise l'extrait brut lors de la polymérisation du styrène (figure 1). Les latex bio-stabilisés ont été caractérisés (taille et distribution des particules) et les résultats comparés à ceux obtenus en présence de tensioactifs synthétiques ioniques ou non ioniques.

Les conditions d'extraction des saponines ont été optimisées : seule l'eau est utilisée comme solvant, la durée et la puissance d'irradiation sont réduites dans le respect des critères d'une chimie verte. Dans les conditions optimales, les noix de lavage, réduites en poudre par mécanochimie, sont dispersées dans l'eau à une concentration massique de 5 % et exposées pendant seulement cinq minutes sous 50 W au sein d'un réacteur microondes. Après filtration, le taux de solide de la phase aqueuse a été évalué et l'efficacité d'extraction atteinte est de 90 ± 3 % massique. Des extractions en chauffage conventionnel ont également été effectuées pour comparaison, toutes choses étant égales par ailleurs. Après huit heures à 25 °C et 50 °C, l'efficacité d'extraction a été mesurée à 75 et 79 % respectivement. Les saponines sont des glycosides de triterpène composés d'une chaîne d'oligosaccharides et d'une aglycone [10], structure qui leur confère leurs propriétés interfaciales. Bien qu'elles soient considérées comme non ioniques, les saponines contiennent des groupes carboxyle sur les chaînes latérales. Ainsi, le pH et la force ionique du milieu peuvent induire des effets sur la concentration micellaire critique (CMC) des solutions brutes de saponines. Dans notre étude, la CMC des solutions brutes de saponines extraites par microondes a été déterminée à 0,005 % massique (pH 4,4 et sans addition de sel). Cette valeur est dix fois inférieure à la CMC précédemment rapportée sur le même type de saponines [11], phénomène qui a été expliqué par la présence de polymères naturels amphiphiles ou hydrophiles également extraits des noix de lavage lors du processus microondes. De plus, la CMC est indépendante de la force ionique de la solution mais sensible au pH ; les fonctions carboxyliques semblent donc protégées dans les micelles et non exposées à la phase aqueuse, et le comportement est assimilable à celui d'un tensioactif non ionique.

L'extrait brut a ensuite été engagé dans la synthèse en émulsion de polystyrène et l'efficacité de ce bio-tensioactif comparé à deux tensioactifs synthétiques, l'un ionique (dodécylsulfate de sodium, SDS) et l'autre non ionique (nonylphénol éthoxylé contenant 40 unités d'oxyde d'éthylène, NP40). Toutes les polymérisations ont été faites dans les mêmes conditions : 20 % massique de styrène et un rapport [amorceur]/[styrène] = 0,37. Des rendements quantitatifs et moins de 3 % massique de coagulum ont été obtenus, quelles que soient les concentrations en tensioactifs engagées (de 1 à 6 %). Les latex ont notamment été caractérisés par les mesures du diamètre hydrodynamique (d_h) de leurs particules de polystyrène par diffusion dynamique de la lumière (DLS, « dynamic light scattering ») (voir tableau).

En lien avec leur comportement de tensioactif non ionique [12-13], les latex stabilisés par les saponines sont constitués de particules présentant une taille du même ordre de grandeur que les particules stabilisées par le NP40. De plus petites particules ont été obtenues en présence de SDS comme attendu en raison des propriétés intrinsèques des tensioactifs ioniques au regard de leurs homologues non ioniques. Une étude plus poussée par DLS de la stabilité des latex stabilisés par 4 % massique de saponines a montré que la température peut être considérée comme ayant un effet négligeable dans la gamme de 25 à 40 °C. La stabilité a également été évaluée à force ionique constante en utilisant le nitrate de sodium dans une gamme de concentration variant de $0,125 \text{ mol L}^{-1}$ à 1 mol L^{-1} . Les résultats des latex à base de saponines montrent une stabilité tout aussi performante que celle obtenue généralement pour des latex stabilisés par du SDS.

Notre étude a montré que l'extraction quantitative des saponines pouvait être réalisée par les procédés microondes avec un gain de temps considérable comparé aux méthodes d'extraction conventionnelles. Sans étape de purification ou d'utilisation de solvant autre que l'eau, les extraits bruts de saponines ont été engagés dans la synthèse de particules de polystyrène en émulsion. Les caractérisations montrent que les saponines sont des bio-tensioactifs prometteurs qui permettent la synthèse de particules aux propriétés pouvant concurrencer celles obtenues usuellement pour les latex stabilisés par les tensioactifs anthropiques tels que les nonylphénols éthoxylés.

Modification chimique de polysaccharides

Les réactions assistées par microondes sur les polymères naturels se sont vraiment développées à partir des années 2000,

Conditions de synthèse des particules de polystyrène et diamètres hydrodynamiques (d_h) obtenus par diffusion dynamique de la lumière (DLS).

	[tensioactif] %massique	DLS (d_h , nm)
NP40	0,92	440
	4,00	340
	6,08	160
Saponines	1,00	480
	4,00	310
	5,94	250
SDS	0,78	160
	4,00	80
	6,04	50

permettant d'accentuer le caractère « environnemental » de ces macromolécules. La cellulose et l'amidon font partie des polysaccharides les plus communément utilisés pour des réactions de greffage de polymère synthétique sur le squelette macromoléculaire ou des fibres [14-15]. Mais d'autres réactions furent réalisées comme la désulfatation [16], la synthèse de pectines modifiées [17] ou la dégradation d'hyaluronane afin de préparer des échantillons de faible masse molaire [18]. Depuis plusieurs années, les réactions de gélification, voire d'élaboration de « quantum dots » carbonés à partir de nanofibres de chitine, sont réalisées à l'aide de microondes [19]. Dans tous les cas, la synthèse assistée par microondes améliore la vitesse de réaction et mène à des temps de réaction plus courts et des rendements supérieurs, mais peu d'études quantifient ces améliorations en comparant ces grandeurs en fonction du mode de chauffage (conventionnel ou par irradiation microondes). Par exemple, Nagarpita *et coll.* [20] ont montré que dans le cas du greffage d'un copolymère d'acrylate de sodium et d'acrylamide sur du chitosane, un pourcentage de greffage optimal de 64 % est obtenu après 60 minutes par chauffage conventionnel à 110 °C, tandis qu'un greffage à 98 % est observé après seulement trois minutes sous irradiation microondes à une puissance de 800 W et une température de 70 °C. Takano *et coll.* ont réalisé une étude semblable pour la synthèse de 6-amino-6-déoxycellulose [21]. Cette réaction nécessite trois étapes après une étape de solubilisation de la cellulose dans Me₂NCOMe. Pour chacune de ces étapes, l'usage des microondes permet un gain important de temps, d'énergie et réduit en outre la dépolymérisation. Si l'on considère la dernière étape, l'amination, un chauffage dans un bain d'huile à 60 °C durant 2 880 minutes permet d'obtenir un rendement de 88 %, un degré de substitution (DS) de 0,96 et un degré de polymérisation (DP) de 59. Une irradiation microondes d'une puissance de 50 W durant 60 secondes permet d'atteindre une température de 80 °C, et après maintien de cette température durant quinze minutes, le produit final est obtenu avec un rendement de 91 %, un DS de 0,92 et un DP de 106. De même, Biswas *et coll.* [22] ont synthétisé des polyuréthanes à base de cyclodextrine par réaction de cet oligomère avec des diisocyanates. Avec du toluène diisocyanate (TDI) à 145 °C, le chauffage conventionnel permet d'obtenir un rendement de 73 % après vingt minutes, alors qu'avec une irradiation microondes durant trois minutes, celui-ci est de 84 %. Enfin, les propriétés d'insertion de molécules se révèlent supérieures avec le dérivé préparé par irradiation microondes. Le chitosane est le principal dérivé de la chitine, extraite de carapaces de crustacés, d'insectes ou de champignons. Sa modification chimique lui permet d'élargir son spectre d'applications. Il est biodégradable, biocompatible, non irritant et présente de bonnes propriétés filmogènes, adhésives et mécaniques. Il est ainsi utilisé en biomédecine (système de libération contrôlée de médicament), dans le traitement des eaux, pour l'emballage ou encore au sein de biocapteurs. Mais la modification chimique présente de nombreux inconvénients tant d'un point de vue environnemental (solvants) qu'énergétique. Le greffage de chaînes alkyle sur du chitosane pour préparer des polysaccharides amphiphiles permet d'obtenir des composés biosourcés susceptibles d'être utilisés dans de nombreuses applications, que ce soit comme stabilisants d'émulsions ou comme modificateurs de rhéologie. L'usage des microondes a été comparé avec le chauffage conventionnel [2]. La réaction considérée, une amination réductrice entre les groupements amine du chitosane

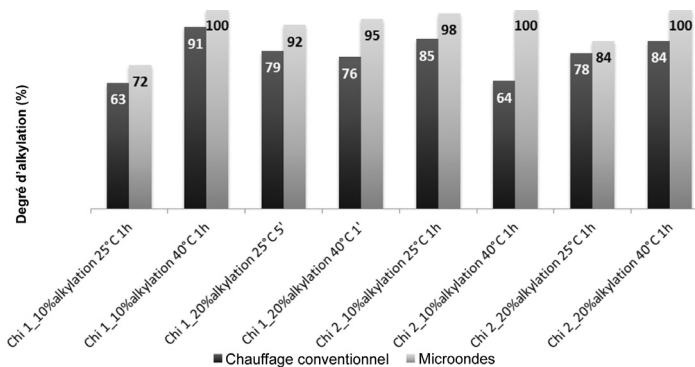


Figure 2 - Comparaison des rendements obtenus durant la synthèse d'alkylchitosane en utilisant le chauffage conventionnel ou l'irradiation microondes (mode de contrôle de température et de puissance, puissance d'irradiation 30 W) (adapté de [2] avec permission).

et carbonyle d'un aldéhyde, est réalisée en milieu aqueux, milieu polaire propice à l'usage des microondes. Le réacteur microondes est utilisé en mode pulsé en puissance (SPS) avec un contrôle à 30 W. Dans de telles conditions, une température de 40 °C est atteinte en 100 secondes alors qu'un chauffage conventionnel en demande environ 600, d'où un gain notable en énergie. Le rendement de cette réaction a été suivi en fonction du degré de substitution souhaité et de la température de réaction (figure 2). Quels que soient la masse molaire du chitosane, le degré de substitution visé et la température, les rendements obtenus sous irradiation microondes sont toujours supérieurs à ceux obtenus par chauffage conventionnel. Par exemple, pour le chitosane de masse molaire la plus élevée (Chi2) et un degré d'alkylation visé de 10 %, la réaction assistée par microondes à 40 °C en une heure permet une augmentation de rendement de 35 %. En outre, les conditions opératoires sous irradiation microondes ne modifient pas les caractéristiques de la chaîne macromoléculaire (masse molaire et degré d'acétylation dans le cas du chitosane).

Afin d'améliorer les conditions de réaction et de se rapprocher des conditions de « chimie verte » l'irradiation microondes permet aussi de réaliser des réactions en milieu aqueux (plutôt qu'organique), voire même sans solvant. Les alkylcelluloses sont des produits commerciaux qui sont obtenus par une réaction en milieu alcoolique durant plusieurs heures. Une alternative utilisant une irradiation microondes en milieu aqueux alcalin a été reportée par Biswas *et coll.* [23]. La réaction nécessite moins de trente minutes et permet d'obtenir des taux de conversion de 54 à 87 % et des degrés de substitution de 0,2 à 1. Le même groupe a préparé des esters d'amidon par réaction avec des anhydrides en présence d'une quantité catalytique de diiode, qui est un bon absorbeur de radiations microondes. Un temps de réaction de deux minutes à 100 °C en présence de 0,16 à 2,5 mol% de diiode est suffisant pour obtenir des acétates d'amidon avec un degré de substitution (DS) compris entre 0,13 et 3.

Au service des procédés verts

Les microondes répondent à une demande croissante de développer des procédés plus « verts » en réduisant le nombre d'étapes, la consommation d'énergie, la quantité de solvants et le temps de réaction, et en diminuant les sous-produits... Toutefois, en raison du coût d'investissement élevé et de la nécessité de modifier de manière importante l'équipement utilisé précédemment par les entreprises, son implantation industrielle reste limitée à la chimie fine pour la synthèse de molécules ou de composés à forte valeur ajoutée (synthèse

pharmaceutique, produits cosmétiques, catalyseurs sélectifs...). La technique est également présente et avantageuse industriellement pour des procédés en continu permettant des temps de séjour de quelques secondes à quelques dizaines de secondes. Quant aux techniques d'extraction, elles peuvent être réalisées sans solvant (SFME, « solvant free microwave extraction »), comme par exemple l'extraction d'huiles essentielles à partir de matières végétales. L'industrie chimique est aujourd'hui confrontée à d'importantes mutations : économique, environnementale, sociétale, conjoncture dans laquelle les microondes, grâce à leurs caractéristiques, pourraient avoir une place grandissante.

[1] Schmitt C., Grassl B., Lespes G., Desbrières J., Pellerin V., Reynaud S., Gigault J., Hackley V.A., Saponins: a renewable and biodegradable surfactant from its microwave-assisted extraction to the synthesis of monodisperse lattices, *Biomacromolecules*, **2014**, *15*, p. 856.

[2] Petit C., Reynaud S., Desbrières J., Amphiphilic derivatives of chitosan using microwave irradiation: toward an eco-friendly process to chitosan derivatives, *Carbohydr. Polym.*, **2015**, *116*, p. 26.

[3] Naylor C. et al., Alkylphenol ethoxylates in the environment, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1992**, *69*, p. 695.

[4] Servos M.R., Review of the aquatic toxicity, estrogenic responses and bioaccumulation of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates, *Water Qual. Res. J. Can.*, **1999**, *34*, p. 123.

[5] Ahel M., Giger W., Koch M., Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment. I. Occurrence and transformation in sewage treatment, *Water Res.*, **1994**, *28*, p. 1131.

[6] Kensil C.R., Mo A.X., Truneh A., Current vaccine adjuvants: an overview of a diverse class, *Front. Biosci.*, **2004**, *9*, p. 2972.

[7] Meybeck A.L.P., Bonte F., Dumas M., Composition cosmétique ou dermatologique contenant au moins une saponine de type ginsenoside, et ses applications, notamment pour le soin des cheveux, PCT/FR1993/000899, **1997**.

[8] Güçlü-Ustündağ O., Mazza G., Saponins: properties, applications and processing, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **2007**, *47*, p. 3231.

[9] U.S. Environmental Protection Agency, Action Plan for Nonylphenol (NP) and Nonylphenol Ethoxylates (NPEs), Report RIN 2070-ZA09, **2010**.

[10] Grover R.K. et al., Complete H-1 and C-13 NMR assignments of six saponins from *Sapindus trifoliatus*, *Magn. Reson. Chem.*, **2005**, *43*, p. 1072.

[11] Balakrishnan S., Varughese S., Deshpande A.P., Micellar characterisation of saponin from *Sopindus mukorossi*, *Tenside Surfact. Det.*, **2006**, *43*, p. 262.

[12] Stanimirova R. et al., Surface rheology of saponin adsorption layers, *Langmuir*, **2011**, *27*, p. 12486.

[13] Skurtys O., Aguilera J.M., Formation of O/W macroemulsions with a circular microfluidic device using saponin and potato starch, *Food Hydrocoll.*, **2009**, *23*, p. 1810.

[14] Kaith B.S., Jindal R., Jana A.K., Mithu Maiti M., Characterization and evaluation of methyl methacrylate-acetylated *Saccharum spontaneum* L. graft copolymers prepared under microwave, *Carbohydr. Polym.*, **2009**, *78*, p. 987.

[15] Brand J., Pecastaings G., Sèbe G., A versatile method for the surface tailoring of cellulose nanocrystal building blocks by acylation with functional vinyl esters, *Carbohydr. Polym.*, **2017**, *169*, p. 189.

[16] Navarro D.A., Floers M.L., Stortz C.A., Microwave-assisted desulfation of sulfated polysaccharides, *Carbohydr. Polym.*, **2007**, *69*, p. 742.

[17] Calce E., Bugatti V., Vittoria V., De Luca S., Solvent-free synthesis of modified pectin compounds promoted by microwave irradiation, *Molecules*, **2012**, *12*, p. 12234.

[18] Drimalova E., Velebny V., Sasinkova V., Hromodkova Z., Ebringerova A., Degradation of hyaluronan by ultrasonication in comparison to microwave and conventional heating, *Carbohydr. Polym.*, **2005**, *61*, p. 420.

[19] Naghdi T., Atashi M., Golmohammadi H., Saeedi I., Alanezhad M., Carbon quantum dots originated from chitin nanofibers as a fluorescent chemoprobe for drug sensing, *J. Ind. Engineer. Chem.*, **2017**, *52*, p. 162.

[20] Nagarpita M.V., Roy P., Shruthi S.B., Sailaja R.R.N., Synthesis and swelling characteristics of chitosan and CMC grafted sodium acrylate-co-acrylamide using modified nanoclay and examining its efficacy for removal of dyes, *Int. J. Biol. Macromol.*, **2017**, *102*, p. 1226.

[21] Takano T., Ishikawa J., Kamitakahara H., Nakatsubo F., The application of microwave heating to the synthesis of 6-amino-6-deoxycellulose, *Carbohydr. Res.*, **2007**, *342*, p. 2456.

[22] Biswas A., Appell M., Liu Z., Cheng H.N., Microwave-assisted synthesis of cyclodextrin polyurethanes, *Carbohydr. Polym.*, **2015**, *133*, p. 74.

[23] Biswas A., Kim S., Selling G.W., Cheng H.N., Microwave-assisted synthesis of alkyl cellulose in aqueous medium, *Carbohydr. Polym.*, **2013**, *94*, p. 120.

Jacques DESBRIÈRES* et **Bruno GRASSL**, professeurs, Université de Pau et des Pays de l'Adour (UPPA), Institut des sciences analytiques et de physico-chimie pour l'environnement et les matériaux (IPREM), Pau.

Charlotte PETIT, postdoctorante au Karlsruhe Institute of Technology (All.), a effectué sa thèse à l'IPREM.

Stéphanie REYNAUD*, chargée de recherche au CNRS, IPREM.

* jacques.desbrieres@univ-pau.fr ; stephanie.reynaud@univ-pau.fr

Suivez les actus de la SCF, du RJ-SCF et de la Chimie

 Facebook Société Chimique de France

 Twitter @reseauSCF

 Facebook Réseau des Jeunes Chimistes-SCF

 Twitter @RJ_SCF