(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

COURBEVOIE

(11) **N° de publication :** ***3 077 066***

(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

(21) **N° d'enregistrement national :** **18 50505**

(51) Int Cl[8] : ***C 01 B 33/44*** *(2018.01), C 05 F 11/08, 11/10*

(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION A1

(22) **Date de dépôt :** 23.01.18.

(30) **Priorité :**

(43) **Date de mise à la disposition du public de la demande :** 26.07.19 Bulletin 19/30.

(56) **Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire :** *Se reporter à la fin du présent fascicule*

(60) **Références à d'autres documents nationaux apparentés :**

( ) **Demande(s) d'extension :**

(71) **Demandeur(s) :** *AGRO INNOVATION INTERNATIONAL Société par actions simplifiée* — FR, *UNIVERSITE DE HAUTE ALSACE Etablissement public à caractère scientifique et culturel* — FR et *CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE Etablissement public* — FR.

(72) **Inventeur(s) :** PLUCHON SYLVAIN, K., YVIN JEAN-CLAUDE, BRENDLE JOCELYNE, LIMOUSY LIONEL et DUTOURNIE PATRICK.

(73) **Titulaire(s) :** AGRO INNOVATION INTERNATIONAL Société par actions simplifiée, UNIVERSITE DE HAUTE ALSACE Etablissement public à caractère scientifique et culturel, CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE Etablissement public.

(74) **Mandataire(s) :** CABINET BEAU DE LOMENIE.

(54) COMPOSITE A BASE DE MATERIAU LAMELLAIRE ET DE MATERIAU POREUX COMPRENANT UNE SUBSTANCE ACTIVE ET/OU UN MICROORGANISME.

(57) La présente invention concerne un procédé de préparation d'un composite matériau poreux / composé / matériau hybride organique-inorganique de structure lamellaire de type 2:1, ledit matériau hybride ayant la formule générale I suivante:

$Na_{>x}[(Mg_{>3})(Al_{>x}(RSi)_{>4-x})O_{>8+x}(OH)_{>2}]$ (I) dans laquelle

x est un nombre tel que $0 \xi \alpha 3$ $x<1,2$ et

R représente un groupe alkyle en $C_{>1}$-$C_{>30}$, un groupe aryle, un groupe (alkyle en $C_{>1}$-$C_{>30}$)aryle ou un groupe O-alkyle en $C_{>1}$-$C_{>30}$, le groupe alkyle pouvant être substitué par un groupe choisi parmi un groupe phényle, vinyle, aminopropyle ou mercaptopropyle,.

et ledit composé étant choisi dans le groupe constitué par au moins une substance active, au moins un microorganisme et leurs mélanges le procédé comprenant:

a) l'étape de synthèse par voie sol-gel du matériau hybride organique-inorganique de structure lamellaire de type 2:1 en présence du composé et du matériau poreux saturé en composé;

b) la récupération du composite.

Elle concerne en outre un composite susceptible d'être obtenu par ce procédé, une composition le comprenant et son utilisation en particulier pour la fertilisation des végétaux.

FR 3 077 066 - A1

La présente invention concerne l'utilisation de matériaux lamellaires et de matériaux poreux pour la fabrication de composite comprenant des substances actives et/ou des microorganismes destinés à la croissance ou au traitement des plantes.

Les inventeurs ont découvert de façon surprenante qu'il était possible d'encapsuler de tels microorganismes et/ou des substances actives au sein de composites à base d'argile de synthèse de type talc ou saponite et de matériau poreux au cours de la synthèse de ces argiles, tout en maintenant l'activité des substances actives et des microorganismes et en permettant leur relargage contrôlé au cours du temps dans le sol ou dans la plante.
Un tel composite n'a jamais été décrit dans l'art antérieur.

La présente invention concerne donc un procédé de préparation d'un composite matériau poreux / composé / matériau hybride organique-inorganique de structure lamellaire de type 2:1, ledit matériau hybride ayant la formule générale I suivante :

$Na_x[(Mg_3)(Al_x(RSi)_{4-x})O_{8+x}(OH)_2]$ (I)

dans laquelle

x est un nombre tel que $0 \leq x < 1,2$ et

R représente un groupe alkyle en C_1-C_{30}, un groupe aryle, un groupe (alkyle en C_1-C_{30})aryle ou un groupe O-alkyle en C_1-C_{30}, le groupe alkyle pouvant être substitué par un groupe choisi parmi un groupe phényle, vinyle, aminopropyle ou mercaptopropyle,.

et ledit composé étant choisi dans le groupe constitué par au moins une substance active, au moins un microorganisme et leurs mélanges

le procédé comprenant :

a) l'étape de synthèse par voie sol-gel du matériau hybride organique-inorganique de structure lamellaire de type 2 :1 en présence du composé et du matériau poreux saturé en composé ;

b) la récupération du composite.

La présente invention concerne donc un procédé de préparation d'un composite à base d'un matériau hybride organique-inorganique de structure lamellaire de type 2:1. Ledit matériau hybride organique-inorganique de structure lamellaire de type 2:1 a la formule générale I suivante :

$Na_x[(Mg_3)(Al_x(RSi)_{4-x})O_{8+x}(OH)_2]$ (I)

dans laquelle

x est un nombre tel que $0 \leq x < 1,2$ et

R représente un groupe alkyle en C_1-C_{30}, avantageusement un groupe n-hexadécyle ou un groupe méthyle, en particulier un groupe n-hexadécyle ; un groupe aryle, avantageusement un groupe phényle ; un groupe (alkyle en C_1-C_{30})aryle, avantageusement un groupe éthylphényle ; ou un groupe O-alkyle en C_1-C_{30}, avantageusement un groupe éthoxy ; le groupe alkyle pouvant être substitué par un groupe choisi parmi un groupe phényle, vinyle, aminopropyle ou mercaptopropyle,.

On entend au sens de la présente invention par « groupe alkyle en C_1-C_{30} », tout groupe alkyle saturé linéaire ou ramifié ayant de 1 à 30 atomes de carbone tel que le groupe méthyle, éthyle, n-propyle, isopropyle, n-butyle, isobutyle, sec-butyle, tert-butyle, n-pentyle, isopentyle, sec-pentyl, sec-isopentyle, néopentyle, n-hexyle, 2-méthylpentyle, 3-méthylpentyle, 2,2-diméthylbutyle, 2,3-diméthylbutyle, n-heptyle, n-octyle, n-nonyle, n-décyle, n-undécyle, n-dodécyle, n-pentadécyle, n-hexadécyle, n-icosyle et n-triacontyle. Avantageusement il s'agit du groupe méthyle, éthyle, n-propyle, isopropyle ou n-hexadécyle, encore plus avantageusement du

groupe méthyle, éthyle, ou n-hexadécyle, plus particulièrement du groupe éthyle ou n-hexadécyle.

Par le terme « groupe aryle », on entend au sens de la présente invention un ou plusieurs cycles aromatiques ayant 5 à 20 atomes de carbones, pouvant être accolés ou fusionnés. En particulier, les groupes aryles peuvent être des groupes monocycliques, bicycliques ou polycycliques. De préférence il s'agit du groupe phényle, bi-phényle, naphthyle, anthracényle, phénanthrényle, tétracényle, chrysényle, tryphénylènyle, pyrényle, benzofluorényle, benzopyrényle. Avantageusement il s'agit d'un groupe phényle.

Le matériau hybride organique-inorganique de structure lamellaire est de type 2:1. Il s'agit donc de silicates formés par des empilements de feuillets qui sont constitués par une couche octaédrique entourée de part et d'autre par deux couches tétraédriques. Les atomes de Si et Al (s'il est présent) se trouvent dans la couche tétraédrique et l'atome Mg dans la couche octaédrique. L'atome de Na, s'il est présent, se trouve dans l'espace interfoliaire. Le matériau peut donc être soit de type talc (lorsque x=0) ou de type saponite (x≠0).

De façon avantageuse, il est de type talc c'est à dire que x=0.

La source de silicium nécessaire à la synthèse du matériau hybride de formule I est avantageusement un organoalcoxysilane ou un mélange d'organoalcoxysilanes de formule générale II suivante : $RSi(OR')_3$ (II)

dans laquelle

R est tel que défini ci-dessus et

R' est un groupe méthoxy ou éthoxy.

De façon avantageuse la source de silicium est choisie dans le groupe constitué par :

- le phényltriméthoxysilane (PhénylTMS) de formule (a) suivante :

Phényl-$Si(OCH_3)_3$ (a) ;

- le tétraéthylorthosilicate ou tétraéthylsilane (TEOS) de formule (b) suivante : $Si(OC_2H_5)_4$ (b) ;

- l'hexadécyltriméthoxysilane (C_{16}TMS) de formule (c) suivante :

$CH_3(CH_2)_{14}CH_2$-$Si(OCH_3)_3$ (c)

- le méthyltriéthoxysilane (MTES) de formule (d) suivante :

CH_3-$Si(OCH_3)_3$ (d)

- le phénéthyltriméthoxysilane de formule (e) suivante :

Phényl-$(CH_2)_2Si(OCH_3)_3$ (e) ;

et leurs mélanges.

En particulier elle est choisie dans le groupe constitué par le méthyltriéthoxysilane, le phényltriméthoxysilane, le tétraéthylorthosilicate, l'hexadécyltriméthoxysilane et leurs mélanges, plus particulièrement dans le groupe constitué par le phényltriméthoxysilane, le tétraéthylorthosilicate, l'hexadécyltriméthoxysilane et leurs mélanges.

Dans le cas des mélanges, il peut s'agir en particulier d'un mélange entre le tétraéthylorthosilicate et le phényltriméthoxysilane ou entre le tétraéthylorthosilicate et l'hexadécyltriméthoxysilane, avantageusement il s'agit d'un mélange entre le tétraéthylorthosilicate et le phényltriméthoxysilane.

Ces mélanges peuvent être réalisés en toute proportion.

Avantageusement il s'agit de l'hexadécyltriméthoxysilane (c).

Le composé du composite selon l'invention est choisi dans le groupe constitué par au moins une substance active, au moins un microorganisme et leurs mélanges.

On entend au sens de la présente invention par « substance active » toute substance organique biologiquement active, c'est-à-dire toute substance organique capable de réagir avec les organismes vivants, en

particulier les plantes et donc jouant un rôle spécifique dans le métabolisme par exemple soit en agissant directement sur la plante, soit en agissant sur le sol ou le substrat de culture, soit encore en agissant sur les nuisibles ou au contraire sur les organismes utiles. Ce type de substance peut ainsi permettre la fertilisation, la nutrition, la stimulation de la croissance et/ou la prophylaxie des végétaux et/ou l'amélioration des propriétés physiques, chimiques et/ou biologiques du sol ou du substrat de culture des végétaux. La substance active peut être une molécule, mais aussi un extrait de plantes, un extrait d'algues, un extrait humique ou tout autre type d'extraits ou co-produits. Elle peut être d'origine naturelle ou synthétique, telle qu'une hormone, une protéine, un oligosaccharide, un lipide tel qu'une huile essentielle, une enzyme, un acide aminé tel que le tryptophane, ou la substance active d'un médicament ou d'un produit phytopharmaceutique tel qu'un pesticide, fongicide, herbicide, nématicide. Dans un mode de réalisation avantageux, la substance active est choisie dans le groupe constitué par un acide aminé, en particulier le tryptophane, une huile essentielle et leurs mélanges, de façon avantageuse, il s'agit d'un acide aminé, en particulier du tryptophane.

Dans un mode de réalisation particulier, le composé selon l'invention est donc au moins une substance active. Il peut ainsi s'agir d'un mélange de 2, 3 ou 4 substances actives, en particulier de 2 ou 3 substances actives. Dans un mode de réalisation avantageux, une seule substance active est présente dans le composite, telle que par exemple le tryptophane.

Dans un autre mode de réalisation particulier, le composé selon l'invention est donc au moins un microorganisme. Avantageusement le microorganisme est choisi dans le groupe constitué par une bactérie telle que *Bacillus subtilis (*par exemple accessible sous le numéro CIP 52.62 de

l'institut Pasteur), une microalgue telle que la spiruline (par exemple la cyanobacterium Arthrospira platensis commercialisée sous la dénomination SPIRULINA NATURAL par la société EARTHRISE®), un champignon tel que le *Piriformospora indica* (par exemple accessible sous le numéro DSM 11827 au Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie), et leurs mélanges, de façon avantageuse, le microorganisme est sous forme végétative, sous forme enkystée ou sous forme sporulée, plus particulièrement il s'agit d'une bactérie telle que *Bacillus subtilis,* encore plus particulièrement sous forme végétative.

Le composé selon l'invention peut donc consister en un seul de type de microorganisme tel que la bactérie *Bacillus subtilis.* Il peut également consister en un mélange de 2, 3 ou 4 types de microorganismes différents, en particulier de 2 ou 3 types de microorganismes différents.
Dans un mode de réalisation avantageux, il consiste en un seul de type de microorganisme.

Dans encore un autre mode de réalisation particulier, le composé selon l'invention est un mélange entre au moins une substance active et au moins un microorganisme.

Au sens de la présente invention on entend par « matériau poreux » tout matériau organique ou inorganique comprenant des pores ouverts capables de contenir le composé selon l'invention. En particulier il peut s'agir d'hydroxydes doubles lamellaires, de polymères biocompatibles comportant des charges minérales, du carbone activé ou non activé, de zéolithe, de terre de diatomées, de biochar, de matières organiques pyrolisées, plus avantageusement de carbone activé.

Dans un mode de réalisation avantageux, l'étape a) du procédé selon la présente invention comprend les étapes suivantes :

a1) ajout d'une source de magnésium, avantageusement du nitrate de magnésium hexahydraté, du composé, du matériau poreux saturé en composé, de la source de silicium, dans le cas où x≠0, de la source d'aluminium, avantageusement de l'acétylacétonate d'aluminium et d'un solvant ;

a2) ajustement du pH à entre 8 et 14, avantageusement entre 9 et 12, en particulier à 10, par exemple à l'aide de d'une solution aqueuse de NaOH;

a3) agitation du mélange, avantageusement pendant une durée comprise entre 1 et 24 heures, en particulier entre 12 et 24 heures, plus particulièrement au moins 2 heures, encore plus particulièrement au moins 12 heures, de façon à obtenir un gel.

a4) récupération de la phase solide du gel obtenu à l'étape a3) ;

a5) séchage de la phase solide du gel obtenu à l'étape a4).

Il peut également s'agir d'un mélange d'alcool et d'huile.

Dans le cas où la substance active comprend une huile ou est sous forme liquide, le solvant de l'étape a1) peut ne pas être présent.

En revanche, dans le cas où la substance active est un solide, le solvant de l'étape a1) doit être présent.

L'étape a3) peut être mise en œuvre à une température comprise entre la température ambiante et la température d'ébullition du solvant, avantageusement à température ambiante.

L'étape a4) peut être mise en œuvre par toute méthode bien connue de l'homme du métier, tel que par filtration ou centrifugation, en particulier par centrifugation.

L'étape a5) peut être mise en œuvre dans une étuve, par exemple à une température de 40°C, ou par séchage à l'air ou par lyophilisation.

Une étape intermédiaire a4) bis peut être rajoutée entre les étapes a4) et a5) qui consiste en le lavage de la phase solide du gel obtenue à l'étape a4) avec le solvant de l'étape a1).

Dans un mode de réalisation avantageux lorsque le composé comprend un microorganisme et en particulier lorsque le microorganisme est sous forme végétative, le microorganisme de l'étape a1) se trouve sous la forme d'une préculture dudit microorganisme, avantageusement ayant une teneur en microorganisme comprise entre 10^3 et 10^{10} UFC/ml, avantageusement 10^8 UFC/ml.

Dans ce cas, le procédé selon l'invention peut également comprendre une étape préalable avant l'étape a) de préparation de la préculture de microorganisme. Cette étape eut être mise en œuvre par des méthodes bien connues de l'homme du métier. Elle comprend en particulier l'ensemencement du microorganisme dans un milieu nutritif et l'incubation pendant une période suffisante pour obtenir la concentration en microorganisme voulue.

Dans un autre mode de réalisation avantageux, le procédé selon l'invention peut également comprendre une étape préalable avant l'étape a) de préparation du matériau poreux saturé en composé.

Au sens de la présente invention on entend par « matériau poreux saturé en composé » tout matériau poreux selon l'invention dont la teneur en composé selon l'invention est maximale.

Cette étape de préparation peut être mise en œuvre par toute méthode bien connue de l'homme du métier.

Par exemple dans le cas où le matériau poreux est du carbone activé, cette étape est mise en œuvre par mise en contact sous agitation du carbone activé avec une solution contenant le composé, avantageusement

une solution aqueuse, en particulier lorsque le composé est du tryptophane. Le carbone activé saturé en composé, avantageusement saturé en tryptophane, est ensuite récupéré par une simple filtration et séchage.

La présente invention concerne en outre un composite matériau poreux / composé / matériau hybride organique-inorganique de structure lamellaire de type 2:1 de formule (I), susceptible d'être obtenu par le procédé selon la présente invention et en particulier tel que décrit ci-dessus.

Ainsi, le matériau poreux, le composé et le matériau hybride de formule (I) sont tels que décrits ci-dessus.

Avantageusement ce composite est un composite carbone activé / composé / matériau hybride organique-inorganique de structure lamellaire de type 2:1 de formule (I) de type talc, plus avantageusement un composite carbone activé / tryptophane / matériau hybride organique-inorganique de structure lamellaire de type 2:1 de formule (I) de type talc.

Le taux d'incorporation du composé au sein du composite est avantageusement d'au moins 70mg de composé/ g de composite, plus avantageusement d'au moins 100mg de composé/ g de composite, encore plus avantageusement d'au moins 110mg de composé/ g de composite, en particulier d'au moins 115mg de composé/ g de composite.

Le ratio en poids matériau poreux / matériau hybride de formule (I) du composite est avantageusement d'au moins 1/2, plus avantageusement d'au moins 1/1, en particulier d'au moins 1,5/ 1.

Le microorganisme présent dans le composite peut être revivifié par des méthodes bien connues de l'homme du métier, tel que par exemple par ensemencement sur milieu nutritif solide (boite de Pétri) ou liquide (bioréacteur).

Le composite peut être stocké entre 0 et 12 mois à une température comprise entre 4°C et la température ambiante.

Lorsque le composé est un microorganisme ou comprend un microorganisme, le composite doit être stocké à une température de 4°C.

La présente invention concerne de plus une composition, en particulier phytopharmaceutique, avantageusement destinée à la fertilisation, la nutrition, la stimulation de la croissance et/ou la prophylaxie des végétaux et/ou l'amélioration des propriétés physiques, chimiques et/ ou biologiques du sol ou du substrat de culture des végétaux, comprenant le composite selon l'invention.

Cette composition comprend tout excipient approprié pour l'administration à un végétal ou au sol ou substrat de culture des végétaux, que ce soit par exemple par application foliaire, racinaire, plein champ ou hors-sol. Il s'agit en particulier d'un excipient phytopharmaceutiquement acceptable.

Au sens de la présente invention, on en entend par « phytopharmaceutiquement acceptable », qui est acceptable pour l'utilisation sur les plantes ou le sol, c'est-à-dire non polluant pour l'environnement et non toxique pour les hommes (utilisateurs).

Elle peut en outre comprendre d'autres composés actifs ayant une action synergique ou complémentaire sur le végétal ou le sol ou substrat de culture des végétaux, tel que par exemples des nutriments avantageusement choisis dans le groupe constitué par l'azote, le phosphore, le potassium, le calcium, le magnésium, le silicium, les oligoéléments et leurs mélanges, des matières premières organiques et/ou des matières premières minérales, des pesticides, fongicides, herbicides, nématicides, les hormones, les substances humiques, les extraits d'algues, les acides aminés, les extraits de plantes, l'acide salicylique et les précurseurs ou analogues d'acide salicylique, l'oxyde nitrique et les

précurseurs ou analogues d'oxyde nitrique, les nucléotides cycliques et leurs mélanges.

Cette composition peut donc avoir la forme d'un engrais ou d'un biostimulant.

Elle peut se trouver sous forme solide, en particulier sous forme de poudre, de granulés ou de microgranulés, sous forme liquide ou sous forme de gel.

Ainsi, elle peut par exemple se trouver sous forme solide de type poudre, granulé, microgranulé dans des engrais ou des supports de culture pour la nutrition ou la stimulation des plantes pour un usage en plein ou en localisé.

Elle peut également se trouver sous la forme liquide ou gel d'engrais ou de biostimulants pour un usage en application foliaire ou racinaire.

Elle peut en outre se trouver sous la forme d'un engrais hydrosoluble pour un usage en fertirrigation plein champ ou hors-sol.

Elle peut par ailleurs se trouver sous une forme solide ou liquide d'amendement pour l'amélioration des propriétés physiques, chimiques ou biologiques du sol ou du substrat de culture.

Il peut s'agir de composition de type phytosanitaire ou de composition de type biocontrôle, PNPP (préparations naturelles peu préoccupantes), SDN (stimulation des défenses naturelles), SDP (stimulation des défenses des plantes), dans le cas de la prophylaxie des végétaux.

Les compositions selon l'invention peuvent donc être utilisées :

- par application directe sur un sol, sur toute la surface du sol ou, de préférence, de façon localisée dans la région des racines des plantes à traiter ; ou
- par application au niveau des feuilles et/ou des plantes à traiter, par tous moyens de distribution appropriés, comme par exemple par pulvérisation dans le cas d'une formulation liquide.

Ces compositions peuvent en outre être introduites dans le système d'irrigation en eau et/ou dans des formulations d'engrais.

D'une manière générale, la quantité de composition à utiliser dépend de la nature de la plante à traiter, de la nature du composé présent dans le composite et du mode d'administration envisagé.

L'homme du métier saura adapter les quantités à utiliser en fonction du mode d'application choisi. En particulier, des quantités relativement plus faibles sont utilisées lorsque la composition est appliquée dans la région racinaire alors que des quantités relativement plus importantes sont utilisées lorsque la composition est appliquée sur toute la surface du sol.

Ces compositions peuvent être utilisées en une seule application ou bien en application séquentielle.

Dans un mode de réalisation particulier, la composition selon l'invention permet le relargage contrôlé du composé dans le sol. En effet la cinétique de relargage dépend du matériau hybride de formule (I) du composite et du ratio matériau poreux/ matériau hybride de formule (I) du composite.

En outre, la composition selon l'invention peut comprendre différents composites selon l'invention ayant des cinétique de relargage différents afin d'adapter et donc de contrôler le relargage du composé dans le sol.

La présente invention concerne enfin l'utilisation du composite selon la présente invention ou de la composition selon la présente invention pour la fertilisation, la nutrition, la stimulation de la croissance et/ou la prophylaxie des végétaux et/ou l'amélioration des propriétés physiques, chimiques et/ou biologiques du sol ou du substrat de culture des végétaux, avantageusement des plantes cultivées ou d'intérêt agronomiques.

En particulier cette utilisation peut être mise en œuvre par application foliaire, racinaire, plein champ ou hors-sol.

En effet, la bactérie *Bacillus subtilis* permet de stimuler la croissance des végétaux et les protège contre les stress biotiques (pathogènes) et abiotiques (manque d'eau). Elle permet de solubiliser dans l'eau des formes phosphatées insolubles dans l'eau du Phosphore.

Le champignon *Piriformospora indica* améliore la capacité des végétaux à tolérer le stress environnementaux, stimule la croissance des végétaux et favorise l'absorption des nutriments.

Le tryptophane est quant à lui un précurseur à la production d'auxine, hormone régulant le développement racinaire notamment.

L'huile essentielle en particulier de thym est un stimulateur des défenses naturelles

La spiruline est un producteur de composés chimiques ayant une activé biologique sur les plantes

La présente invention sera mieux comprise à la lecture de la description des dessins et des exemples qui suivent qui sont donnés à titre indicatif non limitatif.

La figure 1 représente la quantité de tryptophane relargué (%) dans un milieu aqueux en fonction du temps (en min) dans les conditions de l'exemple 4 pour différentes composites (C001, C003, C004, C005, C006) selon l'invention et pour du carbone activé saturé en tryptophane (M25).

Exemple 1 : composite carbone activé/tryptophane/ matériau hybride de formule (I) de type talc obtenu à partir d'un mélange d'organoalcoxysilane 80% de PhénylTMS et 20% de TEOS en mol (dénommé CA/TRP/80Ph-20TEOS)

1.A – Préparation du carbone activé saturé en tryptophane (M25)

Un carbone (noté CA1) activé physiquement à la vapeur d'eau (Bioconservacion, Espagne) est broyé. Les particules dont la taille

inférieure à 250 µm sont employées pour la suite des traitements. 10g de ce carbone sont mis en contact sous agitation avec un litre d'une solution aqueuse de tryptophane de concentration égale à 10000 $mg.L^{-1}$. Après filtration à l'aide de filtres à seringues de porosité 0,2 µm, le filtrat est dosé et le produit est séché à 40°C en étuve, la quantité de tryptophane adsorbé est de 309,3 $mg.g^{-1}$ de carbone, la quantité de tryptophane dans le matériau carboné est de 236,2 $mg.g^{-1}$ de matériau (carbone + tryptophane). Ce composé est nommé CA1+TRP. La comparaison entre les diffractogrammes de rayons X des échantillons CA1 et CA1+TRP indique que l'adsorption de tryptophane n'induit aucune modification structurale du carbone activé qui contient du quartz comme impureté. De plus, l'absence de pics de diffraction caractéristiques du tryptophane indique que ce dernier et bien adsorbé sur le carbone activé et ne cristallise pas en surface.

1.B – Préparation du composite CA/TRP/80Ph-20TEOS (C004)

2,16g de nitrate de magnésium hexahydraté (99%, Sigma Aldrich) sont ajoutés à 20 mL d'éthanol absolu (99,9%, Carlo Erba), le mélange est maintenu sous agitation jusqu'à dissolution complète. 200 mg de L-tryptophane (TRP) (>98 %, Sigma Aldrich) sont introduits sous agitation puis 1g de l'échantillon de référence CA1+TRP est introduit avant l'ajout d'un mélange constitué de 1,646 g de phényltriméthoxysilane (98%, ABCR) et de 0,432g de tétraéthylsilane (98%, ABCR) (mélange en masse de 79,2% de PhénylTMS et 20,8% de TEOS qui représente 80% de PhénylTMS et 20% de TEOS en mol). L'ensemble est laissé sous agitation puis le pH de la solution est porté à une valeur de 10 par addition de 15 mL d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (>97 %, Sigma Aldrich) de concentration 1M. Après 24h d'agitation à température ambiante, le solide est séparé de la solution par centrifugation (vitesse de 10000 tours par min durant 10 min). Le solide est lavé à trois reprises

avec de l'éthanol avant d'être séché dans une étuve à 40°C durant 48h. Le composé (2,21g) obtenu est ensuite broyé dans un mortier en agate avant d'être caractérisé. Le diffractogramme de Rayons X indique que la structure de type talc de formule $Mg_3(RSi)_4O_8(OH)_2$ dans laquelle R représente un mélange de groupe phényle et de groupe O-éthyle est formée (présence des réflexions caractéristiques des plans réticulaires (001), (020,110), (130,220) et (060)) et qu'il comporte le composé carboné (présence des réflexions caractéristiques du carbone et du quartz) (taux d'incorporation : 115,9 mg de tryptophane /g de composite).

Exemple 2 : composite carbone activé/tryptophane/ matériau hybride de formule (I) de type talc obtenu à partir de l'organoalcoxysilane C16TMS (dénommé CA/TRP/C_{16}TMS2,5 (C005))

1,13g de nitrate de magnésium hexahydraté (99%, Sigma Aldrich) sont ajoutés à 20 mL d'éthanol absolu (99,9%, Carlo Erba), le mélange est maintenu sous agitation jusqu'à dissolution complète. 200 mg de L-tryptophane (TRP) (>98 %, Sigma Aldrich) sont introduits sous agitation puis 2,5g de l'échantillon de référence CA1+TRP obtenu selon l'exemple 1-A est introduit avant l'ajout de 2 g d'hexadécyltriméthoxysilane (>85%, Sigma). L'ensemble est laissé sous agitation puis le pH de la solution est porté à une valeur de 10 par addition de 15 mL d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (>97 %, Sigma Aldrich) de concentration 1M. Après 24h d'agitation à température ambiante, le solide est séparé de la solution par centrifugation (vitesse de 10000 tours par min durant 10 min). Le solide est lavé à trois reprises avec de l'éthanol avant d'être séché dans une étuve à 40°C durant 48h. Le composé obtenu (4,11g) est ensuite broyé dans un mortier en agate avant d'être caractérisé.

Le cliché de microscopie électronique à balayage indique que l'encapsulation de l'échantillon CA1+TRP est totale (taux d'encapsulation : 119,7 mg de tryptophane /g de composite).

Exemple 3 : Composites CA/TRP/C_{16}TMS5, CA/TRP/C_{16}TMS1, CA/TRP/MTES et CA/TRP/100%Phényl

Par un procédé identique à celui utilisé pour préparer le composé CA/TRP/C16TMS d'autres composés selon l'invention ont été préparés en remplaçant l'hexadécyltriméthoxysilane comme source de silicium par du méthyltriéthoxysilane (MTES) ou du phényltriméthoxysilane (PhénylTMS) ou en modifiant le ratio hexadécyltriméthoxysilane / CA1 (carbone activé).

Les composés obtenus ont été nommés respectivement CA/TRP/MTES, CA/TRP/100%Phényl, CA/TRP/C_{16}TMS1 et CA/TRP/C_{16}TMS5.

La quantité de composés utilisés et récupérés et les taux d'encapsulation sont rassemblés dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1

Composé	**source de silicium**	**Masse carbone activé (g)**	**masse récupérée (g)**	**Masse matériau hybride type talc (g)**	**taux encapsulation (mg TRP /g composite)**
CA/TRP/MTES (C001)	MTES	1	2,08	1,08	107,8
CA/TRP/100%Phényl (C003)	PhénylTMS	1	2,04	1,04	125,1
CA/TRP/C16TMS1 (C002)	C_{16}TMS	1	2,66	1,66	76,7
CA/TRP/C16TMS5 (C006)	C_{16}TMS	5	6,52	1,52	148,6

Il est à remarquer qu'à masse de carbone égale, le composite synthétisé avec le PhénylTMS contient plus de tryptophane.

Toutefois l'encapsulation est meilleure avec le composite synthétisé avec le C_{16}TMS. Il existe en outre une corrélation entre la masse de carbone intégré dans le composite et la masse de matériau hybride de type talc synthétisé avec le C_{16}TMS.

Exemple 4 : cinétique de relargage en mode dynamique

Les propriétés de relargage du tryptophane à partir du composite selon l'invention ont été étudiées selon le protocole suivant :

15 mg du composite selon l'invention ont été mis en suspension dans 50 ml d'eau déminéralisée ou 300 mg du composite selon l'invention ont été mis en suspension dans 1L d'eau déminéralisée de façon à obtenir une concentration de 300 mg/L.

Des prélèvements réguliers de 5ml ont été réalisés et filtrés immédiatement (seuil de coupure 0,2µm)

Des analyses en spectroscopie UV ont été réalisées sur ces prélèvements. Un scan a été ainsi effectué pour vérifier que la signature UV est bien celle du tryptophane, puis une quantification du tryptophane a été mise en œuvre par analyse à 280 nm.

Après analyse, le prélèvement est remis dans la solution mère. Lorsque la concentration en tryptophane se stabilise dans la solution mère, celle-ci est filtrée sur Büchner puis le matériau carboné ou le composite est de nouveau mis en suspension dans de l'eau déminéralisée. Ainsi, le protocole recommence jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de relargage de tryptophane. Ce mode est alors appelé mode dynamique.

Les résultats sont présentés dans la figure 1.

On remarque (figure 1) que le relargage est très rapide pour le carbone activé saturé en tryptophane (CA1+TRP (M25)) et pour certains composites (CA/TRP/MTES (C001) et CA/TRP/80Ph-20TEOS (C004)).

En revanche la cinétique de relargage est un peu plus lente pour le composite CA/TRP/100%Phényl (C003) et encore plus lente pour les composites CA/TRP/C_{16}TMS2,5 (C005) et CA/TRP/C_{16}TMS5 (C006).

Le relargage varie également en fonction du ratio CA/matériau hybride de type talc comme démontré dans la figure 1 pour les composites CA/TRP/C_{16}TMS2,5 et CA/TRP/C_{16}TMS5: il augmente si le ratio augmente.

REVENDICATIONS

1. Procédé de préparation d'un composite matériau poreux/ composé / matériau hybride organique-inorganique de structure lamellaire de type 2:1, ledit matériau hybride ayant la formule générale I suivante :

$Na_x[(Mg_3)(Al_x(RSi)_{4-x})O_{8+x}(OH)_2]$ (I)

dans laquelle

x est un nombre tel que $0 \leq x < 1,2$ et

R représente un groupe alkyle en C_1-C_{30}, un groupe aryle, un groupe (alkyle en C_1-C_{30})aryle ou un groupe O-alkyle en C_1-C_{30}, le groupe alkyle pouvant être substitué par un groupe choisi parmi un groupe phényle, vinyle, aminopropyle ou mercaptopropyle,.

et ledit composé étant choisi dans le groupe constitué par au moins une substance active, et au moins un microorganisme et leurs mélanges

le procédé comprenant :

a) l'étape de synthèse par voie sol-gel du matériau hybride organique-inorganique de structure lamellaire de type 2 :1 en présence du composé et du matériau poreux saturé en composé ;

b) la récupération du composite.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que x=0 ;

3. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que le composé est une substance active, avantageusement choisie dans le groupe constitué par un acide aminé, en particulier le tryptophane.

4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que le composé est un microorganisme, avantageusement choisi dans le groupe constitué par une bactérie telle que *Bacillus subtilis*, une

microalgue telle que la spiruline, un champignon tel que le *Piriformospora indica*, et leurs mélanges, de façon avantageuse, le microorganisme est sous forme végétative, plus particulièrement il s'agit d'une bactérie.

5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le matériau poreux est du carbone activé ou non activé, avantageusement du carbone activé.

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la source de silicium nécessaire à la synthèse du matériau hybride de formule I de l'étape a) est un organoalcoxysilane ou un mélange d'organoalcoxysilane de formule générale II suivante : $RSi(OR')_3$ (II)
dans laquelle
R est tel que défini dans la revendication 1 et
R' est un groupe méthoxy ou éthoxy.

7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que la source de silicium est choisie dans le groupe constitué par le phényltriméthoxysilane de formule (a) suivante : Phényl-$Si(OCH_3)_3$ (a), le tétraéthylorthosilicate de formule (b) suivante : $Si(OC_2H_5)_4$ (b), l'hexadécyltriméthoxysilane de formule (c) suivante : $CH_3(CH_2)_{14}CH_2$-$Si(OCH_3)_3$ (c), le méthyltriéthoxysilane (MTES) de formule (d) suivante : CH_3-$Si(OCH_3)_3$ (d) et leurs mélanges, avantageusement il s'agit de l'hexadécyltriméthoxysilane (c) .

8. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que l'étape a) comprend les étapes suivantes :
a1) ajout d'une source de magnésium, avantageusement du nitrate de magnésium hexahydraté, du composé, du matériau poreux saturé en

composé, de la source de silicium, dans le cas où x≠0, de la source d'aluminium, avantageusement de l'acétylacétonate d'aluminium et d'un solvant ;

a2) ajustement du pH à entre 8 et 14, avantageusement à 10 ;

a3) agitation du mélange, avantageusement pendant une durée comprise entre 1 et 24 heures, en particulier au moins 12 heures,, de façon à obtenir un gel.

a4) récupération de la phase solide du gel obtenu à l'étape a3) ;

a5) séchage de la phase solide du gel obtenu à l'étape a4).

9. Procédé selon la revendication 8, caractérisé en ce que le composé comprend un microorganisme et en ce que le microorganisme à l'étape a1) trouve se sous la forme d'une préculture dudit microorganisme, avantageusement ayant une teneur en microorganisme comprise entre 10^3 et 10^{10} UFC/ml, et en ce que le procédé comprend une étape préalable avant l'étape a) de préparation de la préculture de microorganisme.

10. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce qu'il comprend une étape préalable avant l'étape a) de préparation du matériau poreux saturé en composé.

11. Composite matériau poreux/ composé / matériau hybride organique-inorganique de structure lamellaire de type 2:1 de formule (I), susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

12. Composition, avantageusement destinée à la fertilisation, la nutrition, la stimulation de la croissance et/ou la prophylaxie des végétaux et/ou

l'amélioration des propriétés physiques, chimiques et/ ou biologiques du sol ou du substrat de culture des végétaux,, comprenant le composite selon la revendication 11 et un excipient approprié.

13. Composition selon la revendication 12, caractérisée en ce qu'elle se trouve sous forme solide, en particulier sous forme de poudre, de granulés ou de microgranulés, sous forme liquide ou sous forme de gel.

14. Composition selon l'une quelconque des revendications 12 ou 13, caractérisée en ce qu'elle permet le relargage contrôlé du composé dans le sol.

15. Composition selon l'une quelconque des revendications 12 à 14, caractérisée en ce qu'elle comprend en outre des nutriments avantageusement choisis dans le groupe constitué par l'azote, le phosphore, le potassium, le calcium, le magnésium, le silicium, les oligoéléments et leurs mélanges, des matières premières organiques et/ou des matières premières minérales.

16. Utilisation du composite selon la revendication 11 ou de la composition selon l'une quelconque des revendications 12 à 15 pour la fertilisation, la nutrition, la stimulation de la croissance et/ou la prophylaxie des végétaux et/ou l'amélioration des propriétés physiques, chimiques et/ ou biologiques du sol ou du substrat de culture des végétaux.

17. Utilisation selon la revendication 16 par application foliaire, racinaire, plein champ ou hors-sol.

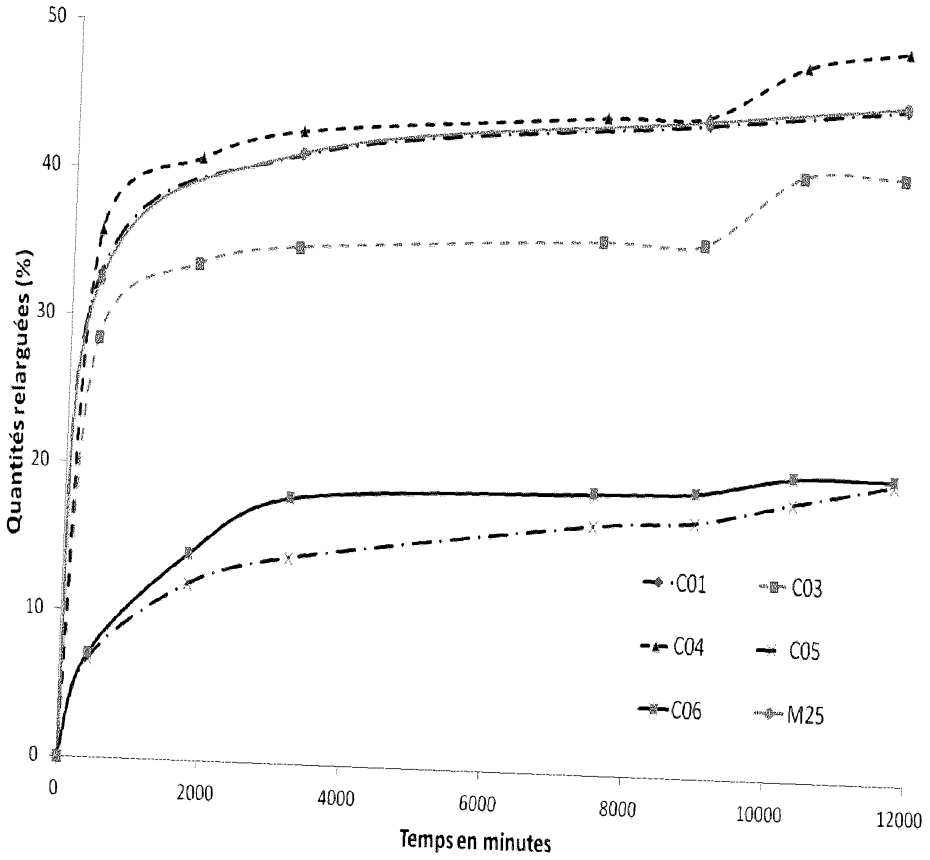

50
40
30
20
10
0
Quantités relarguées (%)
0
2000
4000
6000
8000
10000
12000
Temps en minutes
C01
C03
C04
C05
C06
M25

FIG 1

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement national

FA 849951
FR 1850505

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS

Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Y	CLAVERIE MARIE ET AL: "Synthetic Talc and Talc-Like Structures: Preparation, Features and Applications", CHEMISTRY - A EUROPEAN JOURNAL, WILEY - V C H VERLAG GMBH & CO. KGAA, DE , vol. 24, no. 3 12 janvier 2018 (2018-01-12), pages 519-542, XP009505092, ISSN: 0947-6539, DOI: 10.1002/CHEM.201702763 Extrait de l'Internet: URL:https://epo.summon.serialssolutions.com/2.0.0/link/0/eLvHCXMwpV29TsMwELaABRb-JX6K5IERi8Zx7JqtqmgZOgAtQkyRHV8kBAoVFQMbj8Az8iTcOUlVxAZTLokuSk539nfn-DvGTiEYGVKZCluoTKhEJaLnwYoeeUdRBpcGKg08DNR0ZG5HatwU3GgvTM0PsSi4UWTE8ZoC3Pl5s64vz_GLaB95YjCt0pHs01hy8HtC1y3nrm46ySsjiIG15Wz8pf4DXS5j1DjJDLf--3rbbLOBl7xf-8M [extrait le 2018-10-04] * abrégé * * figure 1 * * page 534 - page 535 *	1-3,6-8, 10-13	C01B33/44 C05F11/08 C05F11/10
A		4,5,9, 14-17	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) C01B C05G

-/--

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
5 octobre 2018	Mertins, Frédéric

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : arrière-plan technologique
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons

& : membre de la même famille, document correspondant

2

EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement national

FA 849951
FR 1850505

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
Y	Hua Shao ET AL: "Synthesis and Properties of Nanoparticle Forms Saponite Clay, Cancrinite Zeolite and Phase Mixtures Thereof", , 9 avril 2010 (2010-04-09), XP055512233, DOI: 10.1016/j.micromeso Extrait de l'Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3121892/pdf/nihms196894.pdf [extrait le 2018-10-04] * abrégé * * page 10 * * page 11 * -----	1-3,6-8, 10-13	
Y	LORENA BETANCOR ET AL: "Advantages of the Pre-Immobilization of Enzymes on Porous Supports for Their Entrapment in Sol-Gels", BIOMACROMOLECULES, vol. 6, no. 2, 1 mars 2005 (2005-03-01), pages 1027-1030, XP055512655, US ISSN: 1525-7797, DOI: 10.1021/bm0493077 * abrégé * * alinéa [experimentalsection] * -----	1-3,6-8, 10-13	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
5 octobre 2018	Mertins, Frédéric

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : arrière-plan technologique
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons
.....
& : membre de la même famille, document correspondant

2

EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)

RECHERCHE INCOMPLÈTE
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE C

Numéro de la demande

FA 849951
FR 1850505

Certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche parce qu'elles se rapportent à des parties de la demande qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:

Revendications susceptibles de faire l'objet de recherches complètes:
-

Revendications ayant fait l'objet de recherches incomplètes:
1-17

Raison pour la limitation de la recherche:

La présente revendication 1 couvre un nombre extrêmement important de procédés potentiels. Cependant, il n'est possible de trouver un fondement et un exposé que pour un nombre très limité des procédés revendiqués (cf. la description en pages 1-5 et les examples en pages 13-18).
La demande n'est pas conforme aux dispositions de fond au point qu'une recherche significative n'a pu être effectuée au regard de l'ensemble de l'objet revendiqué. L'étendue de la recherche a par conséquent été limitée.
La recherche portant sur la revendication 1 a été circonscrite aux procédés revendiqués qui semblent avoir un fondement, et à une généralisation de leurs formules structurelles, c'est-à-dire à un procédé tel que décrit dans la revendication 1 en combinaison avec les caractéristiques techniques suivantes:
i) une définition du "composé" en tant qu'acide aminé, tel que présenté dans la revendication 3
ii) une définition de la synthèse par voie sol-gel telle que présente dans les revendications 6 et 8.