

(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION BELGE

(41) Date de publication : 16/04/2024

(21) Numéro de demande : BE2023/5821

(22) Date de dépôt : 05/10/2023

(62) Divisée de la demande de base :

(62) Date de dépôt demande de base :

(51) Classification internationale : C07G 1/00, C12P 1/00

(30) Données de priorité :

07/10/2022 EP 22200345.1

(71) Demandeur(s) :

UNIVERSITE DE LIEGE
Université
4000, LIEGE
Belgique

(72) Inventeur(s) :

LECART Brieuc
5030 GEMBLoux
Belgique

VANDERSCHUREN Hervé
5000 NAMUR
Belgique

BAUMSTEIGER Chloé
3960 SIERRE
Suisse

(54) Méthode d'extraction de subérine

(57) Un procédé d'extraction de la subérine à partir de biomasse comprenant l'exposition de biomasse comprenant de la subérine à un solvant à une pression et à une température, ladite température étant de 92% à 107%, de préférence de 92% à 106%, de préférence de 92% à 105%, de préférence de 92% à 104%, de préférence de 92% à 103%, de préférence de 92% à 102%, de préférence de 92% à 101%, de préférence de 92% à 100%, de préférence de 92% à 99%, de préférence de 92% à 98%, de préférence de 92% à 97%, de préférence de 92% à 96%, de la température critique en K du solvant à ladite pression.

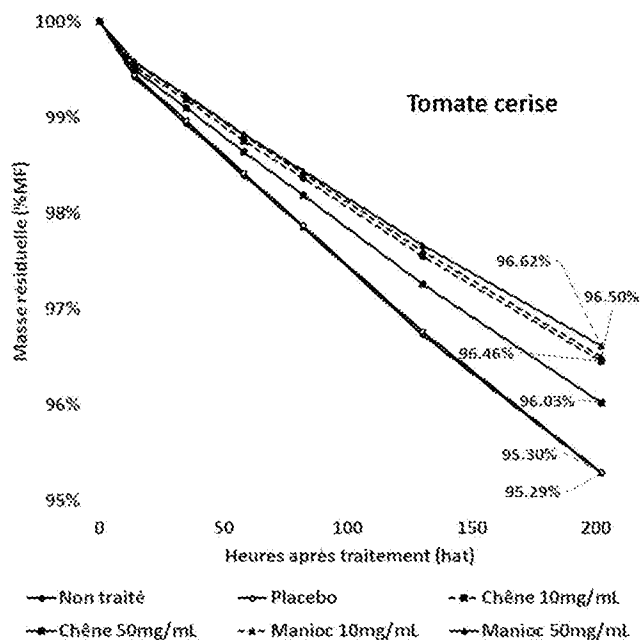


FIG. 6

Méthode d'extraction de subérine

Domaine technique de l'invention

La présente invention concerne le domaine du recyclage de la biomasse, et plus particulièrement le domaine de l'extraction de la subérine à partir de la biomasse.

Contexte de l'invention

La conception de procédés efficaces pour exploiter les résidus agricoles, forestiers et agroalimentaires est essentielle pour atténuer l'impact environnemental de ces secteurs et promouvoir une économie basée sur la biomasse. Jusqu'à présent, de nombreuses voies ont été développées pour la bioraffinerie des biomasses lignocellulosiques. Cependant, l'utilisation de biomasses subéroligneuses provenant d'écorces et d'organes de stockage des plantes, y compris les pelures de racines tubéreuses et les tubercules, est restée rare et s'est principalement concentrée sur l'extraction d'amidon, de métabolites secondaires et de lignine ou sur la production d'énergie.

Environ 359 millions de mètres cubes d'écorce de bois correspondant à une moyenne de 190 millions de tonnes sont générés chaque année et sont composés de polysaccharides, de lignine et de subérine en concentrations très variables. Les pelures de pommes de terre représentent entre 70 et 140 mille tonnes tandis que les pelures de manioc représentent jusqu'à 40 millions de tonnes de matière première générée chaque année, en partie en raison d'un épluchage suboptimal. Elles ont une composition similaire à celle de l'écorce de bois, bien qu'elle puisse également varier entre les espèces et les génotypes. Les voies de traitement actuelles pour les pelures de pommes de terre et de manioc sont l'alimentation animale, la combustion et l'extraction d'amidon résiduel.

Par conséquent, ces sous-produits sont peu exploités malgré le fait qu'ils pourraient être des sources précieuses de divers polymères tels que la cutine et la subérine. En particulier, la subérine représente un potentiel de plusieurs millions de tonnes de biopolyester enrichi en acides gras polyfonctionnels à longue chaîne. Étant donné que la capacité de production d'acides gras stagne et que la demande devrait continuer à croître au cours des prochaines années, l'extraction industrielle de la subérine à partir de biomasse subéroligneuse

disponible dans des sous-produits agricoles tels que les pelures permettrait de diversifier l'approvisionnement en acides gras et en composés dérivés à partir de nouvelles sources sans concurrencer l'utilisation des sols.

5 Bien que la biomasse subéroligneuse se trouve habituellement dans les sous-produits de l'industrie du bois, les tubercules et les racines de stockage
représentent une source précieuse de subérine et une opportunité unique
d'atteindre de nouveaux marchés en convertissant leurs sous-produits tels que
les pelures en molécules à haute valeur ajoutée. Cependant, l'exploitation de la
subérine nécessite le développement de méthodes d'extraction efficaces et une
10 diversification des quelques applications actuellement disponibles pour la
subérine extraite.

Plusieurs méthodes, y compris la transestérification, l'hydrogénation, la
saponification et les liquides ioniques, ont été décrites pour extraire la subérine.
Bien que chaque méthode présente des avantages, aucune d'entre elles ne
15 répond aux trois critères nécessaires pour faciliter la mise en œuvre industrielle
: "(i) un nombre minimal d'étapes d'extraction est requis, (ii) l'utilisation de
produits chimiques et/ou de conditions agressives doit être évitée, et (iii)
idéalement, des opérations bien établies dans l'industrie chimique doivent être
mises en œuvre pour l'upscaling du processus". Bien que la transestérification
20 est une méthode efficace, la nécessité d'ajouter un catalyseur augmente le coût,
la complexité et la quantité d'effluents générés pendant l'extraction. Il est donc
nécessaire dans l'art d'avoir de nouvelles méthodes d'extraction qui surmontent
au moins partiellement un ou plusieurs des problèmes mentionnés ci-dessus.

Résumé de l'invention

25 C'est un objet de la présente invention de fournir de bonnes méthodes
d'extraction de la subérine à partir de la biomasse. Un avantage de la présente
invention est que la subérine extraite peut être utilisée pour enrober des
aliments.

L'objectif ci-dessus est atteint par un procédé, une solution, une
30 pulvérisation, une composition de subérine et une utilisation selon la présente
invention.

Selon un premier aspect, la présente invention concerne un procédé
d'extraction de la subérine à partir de biomasse comprenant l'exposition de

biomasse comprenant de la subérine à un solvant à une pression et à une température, ladite température étant de 82% à 107%, de préférence de 92% à 107%, de préférence de 92% à 106%, de préférence de 92% à 105%, de préférence de 92% à 104%, de préférence de 92% à 103%, de préférence de 92% à 102%, de préférence de 92% à 101%, de préférence de 92% à 100%, de préférence de 92% à 99%, de préférence de 92% à 98%, de préférence de 92% à 97%, de préférence de 92% à 96%, de la température critique en K du solvant à ladite pression.

Dans des modes de réalisation, le solvant peut être un ou plusieurs alcools, de l'eau, un ou plusieurs polyols, un ou plusieurs diméthylcarbonates, un ou plusieurs acides hydroxy, un ou plusieurs diacides, ou un mélange de ceux-ci. Dans certains modes de réalisation, l'extraction du premier aspect permet d'obtenir l'ester/éther correspondant des molécules extraites (acide gras, acylglycérols ou poly(acylglycérols)).

Dans des modes de réalisation, le solvant peut comprendre un alcool, du dioxyde de carbone supercritique, ou une combinaison des deux.

Dans des modes de réalisation, l'alcool peut être choisi parmi le méthanol, l'éthanol, le n-propanol, l'isopropanol et des mélanges de ceux-ci.

Dans des modes de réalisation, le solvant peut être du méthanol et la température est de 420K à 549K, de préférence de 473K à 549K, de préférence de 473K à 544K, de préférence de 473K à 539K, de préférence de 473K à 534K, de préférence de 473K à 529K, de préférence de 473K à 524K, de préférence de 473K à 519K, de préférence de 473K à 513,4K, de préférence de 473K à 508K, de préférence de 473K à 503K, de préférence de 473K à 498K, de préférence de 473K à 493K, et à une pression d'au moins 7,0 MPa. Cela est avantageux car cela permet d'obtenir une dépolymérisation plus faible de la subérine pour un rendement similaire.

Dans des modes de réalisation, la température peut être de 420K ou de 473K à 513,4K, la pression étant au plus de 10,0 MPa, de préférence au plus de 9,0 MPa. Cela est avantageux car cela permet d'obtenir une dépolymérisation plus faible de la subérine pour un rendement similaire. Dans ces modes de réalisation, la température peut éventuellement être de 473K à 495K et la pression est de 8,0 à 10,0 MPa, de préférence de 8,5 à 9,5 MPa.

Cela est avantageux car cela permet d'obtenir une dépolymérisation plus faible de la subérine pour un rendement similaire.

Dans des modes de réalisation, le solvant peut être du méthanol à une température supérieure à 513,4K et à une pression d'au moins 8,0 MPa, de
5 préférence d'au moins 9,0 MPa, de préférence d'au moins 10,0 MPa, de
préférence d'au moins 11,0 MPa, de préférence d'au moins 12,0 MPa, de
préférence d'au moins 13,4 MPa.

Dans des modes de réalisation, la biomasse peut être exposée au
méthanol à ladite pression et à ladite température pendant au moins 1 seconde,
10 de préférence pendant au moins 5 secondes, de préférence pendant au moins
10 secondes, de préférence pendant au moins 15 secondes.

Dans des modes de réalisation, la biomasse peut être exposée au
méthanol pendant au plus 60 minutes, de préférence au plus 5 minutes, de
préférence au plus 2 minutes, de préférence au plus 45 secondes.

15 Un temps de traitement court est avantageux car il permet de mettre en
œuvre l'extraction en tant que traitement continu, par exemple dans un réacteur
tubulaire.

Dans des modes de réalisation, aucun catalyseur n'est présent pendant
l'exposition de la biomasse au méthanol. Un avantage des modes de réalisation
20 de la présente invention est qu'un catalyseur n'est pas nécessaire. Cependant,
dans d'autres modes de réalisation, un catalyseur peut être présent.

Dans des modes de réalisation, la biomasse peut être une biomasse
végétale. Par exemple, il peut s'agir de résidus végétaux provenant de l'activité
forestière tels que l'écorce d'arbre, le liège et les résidus de scierie. Il peut
25 également s'agir de résidus d'activités de transformation des aliments tels que
les pelures de tubercules et de racines tubéreuses (par exemple, pelures de
pommes de terre et pelures de manioc). Il peut également s'agir de matériel
végétal dérivé d'espèces végétales à croissance secondaire et contenant des
tissus de périderme. La biomasse peut être riche ou non en polyester.

30 Dans des modes de réalisation, la biomasse peut être la pelure d'un
tubercule ou l'écorce d'un arbre.

Dans des modes de réalisation, le tubercule peut être un tubercule
amidonnier, de préférence d'une pomme de terre ou d'un manioc.

Selon un deuxième aspect, la présente invention concerne l'utilisation de la subérine pour le revêtement d'un objet. Dans des modes de réalisation, cela peut être fait afin de prolonger sa durée de conservation (en réduisant le taux de perte d'eau, d'échange gazeux et/ou de croissance microbienne). Dans d'autres modes de réalisation, cela peut être fait afin d'ajuster sa perméabilité (par exemple, si l'objet est une membrane semi-perméable). Dans des modes de réalisation, la subérine peut être extraite par un procédé selon n'importe quel mode de réalisation du premier aspect. Dans des modes de réalisation, la subérine peut se présenter sous la forme d'une solution selon le troisième aspect, sous la forme d'une pulvérisation selon le quatrième aspect, peut être une composition selon le cinquième aspect, ou peut être un extrait de subérine selon le sixième aspect.

Dans des modes de réalisation, l'objet est une plante et/ou est un aliment. Dans des modes de réalisation, la plante peut être une fleur, telle qu'une fleur coupée. Dans des modes de réalisation, l'aliment peut être choisi parmi un fruit, un légume ou une racine tubéreuse.

Dans des modes de réalisation, la subérine peut être présente dans une solution comprenant de l'éthanol, la subérine étant présente en une quantité de 10 à 50 mg/ml.

Toute caractéristique du second aspect peut être comme décrite de manière correspondante dans tout autre aspect de l'invention.

Dans un troisième aspect, la présente invention concerne une solution pour le revêtement d'aliments comprenant de l'éthanol, dans laquelle la subérine est présente en une quantité de 10 à 50 mg/ml. Dans des modes de réalisation, la solution peut être appliquée sur un objet par pulvérisation, trempage ou application à la brosse.

Toute caractéristique du troisième aspect peut être comme décrite de manière correspondante dans tout autre aspect de l'invention.

Dans un quatrième aspect, la présente invention concerne un spray comprenant une solution selon n'importe quel mode de réalisation du troisième aspect.

Dans un cinquième aspect, la présente invention concerne une composition de subérine comprenant moins de 0,10 ‰, de préférence au

maximum 0,06 ‰, de préférence au maximum 0,05 ‰ de glycérol sur une base de poids sec. Toute caractéristique du cinquième aspect peut être comme décrite de manière correspondante dans tout autre aspect de l'invention.

5 Dans des modes de réalisation, la composition de subérine peut comprendre au moins 7,1 %, de préférence de 8,0 % à 90,0 %, de préférence de 9,0 % à 80,0 %, de préférence de 10,0 % à 70,0 %, de préférence de 11,0 % à 60,0 %, encore de préférence de 12,0 % à 55,0 % de triacylglycérol, monoacylglycérol, ou une combinaison de ceux-ci sur une base de poids sec.

10 Dans des modes de réalisation, la composition de subérine peut comprendre moins de 1,0 %, de préférence moins de 0,8 %, de préférence moins de 0,6 %, encore de préférence moins de 0,4 % d'acides α , ω -dicarboxyliques sur une base de poids sec.

Dans des modes de réalisation, la composition de subérine peut comprendre moins de 12,0 %, de préférence moins de 10,0 %, de préférence
15 moins de 8,0 %, de préférence moins de 6,0 %, encore de préférence moins de 5,0 % d'acides ω -hydroxy gras sur une base de poids sec.

Dans des modes de réalisation, la composition de subérine peut comprendre moins de 25,0 %, de préférence de 5,0 % à 24,0 %, de préférence de 6,5 % à 23,0 %, de préférence de 8 % à 22,0 %, encore de préférence de
20 8,5 % à 21,0 % d'acides gras non hydroxylés sur une base de poids sec.

Par exemple, la composition de subérine peut comprendre moins de 0,10 ‰ de glycérol, au moins 7,1 % mais au plus 90,0 % de triacylglycérol, monoacylglycérol, ou une combinaison de ceux-ci, moins de 1,0 % d'acides α , ω -dicarboxyliques, moins de 12,0 % d'acides ω -hydroxy gras, et moins de 25,0
25 % mais au moins 5,0 % d'acides gras non hydroxylés sur une base de poids sec.

Dans des modes de réalisation, la composition de subérine peut se composer de :

- 30 à 70 % en poids sec d'un mélange comprenant moins de 0,10 ‰ de
30 glycérol, au moins 7,1 % mais au plus 90,0 % de triacylglycérol, monoacylglycérol, ou une combinaison de ceux-ci, moins de 1,0 % d'acides α , ω -dicarboxyliques, moins de 12,0 % d'acides ω -hydroxy gras, et moins de 25,0 % mais au moins 5,0 % d'acides gras non hydroxylés, et

- 70 à 30 % d'autres composants, dans lesquels les proportions sont données par rapport au poids sec total de la composition de subérine.

5 Toute caractéristique du cinquième aspect peut être comme décrite de manière correspondante dans tout autre aspect de l'invention.

Dans un sixième aspect, la présente invention peut concerner un extrait de subérine pouvant être obtenu par n'importe quel mode de réalisation du procédé du premier aspect.

10 Les inventeurs ont émis l'hypothèse que l'extraction de la subérine pourrait être réalisée dans du méthanol dans des conditions supercritiques (>513,4 K, 8,22 MPa) pour faciliter le fractionnement de la biomasse subéroligneuse. Des expériences ont été réalisées et la pertinence des extraits obtenus a ensuite été évaluée par le biais de l'extension de la durée de conservation des fruits, des légumes ou d'autres nutriments qui sont stockés
15 avant leur consommation.

Un avantage des modes de réalisation de la présente invention est que la subérine peut être extraite de la biomasse sans avoir besoin d'un catalyseur.

20 Un avantage des modes de réalisation de la présente invention est que la subérine peut être extraite de la biomasse de manière économiquement viable.

Un avantage des modes de réalisation de la présente invention est que la subérine peut être extraite de la biomasse en une seule étape, sans avoir besoin d'une étape de purification.

25 Un avantage des modes de réalisation de la présente invention est que la subérine peut être extraite de la biomasse avec une production minimale de déchets.

30 Un avantage des modes de réalisation de la présente invention est qu'ils fournissent une solution bon marché et facile pour atténuer les pertes alimentaires, par exemple dans des pays où le manioc est cultivé en grande quantité en tant que culture industrielle ou de base.

Des aspects particuliers et préférés de l'invention sont décrits dans les revendications indépendantes et dépendantes accompagnantes. Les caractéristiques des revendications dépendantes peuvent être combinées avec

les caractéristiques des revendications indépendantes et avec les caractéristiques d'autres revendications dépendantes, le cas échéant, et non seulement telles qu'explicitement énoncées dans les revendications.

5 Bien qu'il y ait eu une amélioration, un changement et une évolution constants des dispositifs dans ce domaine, les concepts actuels sont considérés comme représentant des améliorations substantielles, nouvelles et novatrices, y compris des écarts par rapport aux pratiques antérieures, ce qui permet de fournir des dispositifs de cette nature plus efficaces, stables et fiables.

10 Les caractéristiques, les fonctionnalités et les avantages susmentionnés de la présente invention deviendront apparents à partir de la description détaillée suivante, prise en conjonction avec les dessins accompagnants, qui illustrent, à titre d'exemple, les principes de l'invention. Cette description est donnée à titre d'exemple uniquement, sans limiter la portée de l'invention. Les chiffres de référence cités ci-dessous se réfèrent aux dessins joints.

15 **Brève description des dessins**

La figure 1 montre le principe général de la transestérification supercritique (TESC) et son effet sur la structure de la subérine. La figure 2 montre le rendement massique de l'extrait de subérine obtenu à partir de l'écorce de chêne (*Quercus robur*), des pelures de tubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum*), des pelures de racines tubéreuses de manioc (*Manihot esculenta*) soumis à un traitement de transestérification supercritique (TESC) (518K, 8.3MPa) pendant 60 minutes. La figure 3 montre les effets de la TESC à 518K 8.3MPa 0-60min sur le rendement massique de l'extrait de subérine et la libération de glycérol du manioc. Différentes lettres indiquent des différences statistiquement significatives ($P \leq 0,05$, Tukey HSD, $n = 3$). 0 minutes signifie qu'une fois que la température a été atteinte, le réacteur a été arrêté. Cela entraîne un contact entre le méthanol et la biomasse à la température cible qui dure environ 30 secondes.

30 La figure 4 montre par une analyse en composantes principales, l'impact de la température, de la pression et de l'état physique du solvant (PSS, L pour liquide, CL pour liquide compressible, G pour gazeux, SCF pour fluide supercritique) sur l'extraction et la dépolymérisation de la subérine de l'écorce de chêne en utilisant le méthanol. Le rendement de l'extrait de subérine (Extrait

de sub.), le glycérol libre (Glycérol) et le rapport molaire COOH/Glycérol (Rapport) ont été utilisés comme variables. La température et la pression sont présentées comme des variables illustratives. 0 minutes signifie qu'une fois que la température a été atteinte, le réacteur a été arrêté. Cela entraîne un contact
5 entre le méthanol et la biomasse à la température cible qui dure environ 30 secondes.

La figure 5 montre la masse résiduelle de myrtilles sur 202 heures avec et sans revêtements d'extrait de subérine obtenu par extraction à 493K 0 min 9MPa (0 min signifie qu'une fois que la température a été atteinte, le réacteur a
10 été arrêté. Cela entraîne un contact entre le méthanol et la biomasse à la température cible qui dure environ 30 secondes).

La figure 6 montre la masse résiduelle de tomates cerises sur 202 heures avec et sans revêtements d'extrait de subérine obtenu par extraction à 493K 0 min 9MPa (0 min signifie qu'une fois que la température a été atteinte, le
15 réacteur a été arrêté. Cela entraîne un contact entre le méthanol et la biomasse à la température cible qui dure environ 30 secondes).

La figure 7 montre les spectres ATR-FTIR de la biomasse étudiée avant traitement, après transesterification supercritique à 518K 60min 8.3MPa (Résidu) et l'extrait de subérine correspondant (Extrait sub.). 2925 cm⁻¹ et 2850
20 cm⁻¹ sont attribués à la chaîne aliphatique (étirement C-H et étirement C-H, CH₃) ; 1735 cm⁻¹ est attribué à la subérine (étirement C=O) ; 1603 cm⁻¹ est attribué à la lignine (étirement aromatique) ; 1511 cm⁻¹ est attribué à la lignine (étirement C=C aromatique) ; la plage 1200 - 980 cm⁻¹ est attribuée aux polysaccharides.

La figure 8 montre l'effet de la TESC à 518K 8.3MPa 60-240 min sur le composant principal de la biomasse et le rendement massique de l'extrait de subérine de Manihot esculenta exprimé en pourcentage de la masse traitée de pelures sèches. AIL = lignine insoluble dans l'acide et ASL = lignine soluble dans l'acide. L'absence de lettres signifie qu'aucune différence statistiquement
25 significative n'a été observée à l'intérieur de chaque composant ($P \leq 0,05$, Tukey HSD, $n = 3$).

La figure 9 montre le taux de réduction de perte de masse par 24 heures par rapport au témoin avec et sans revêtements d'extrait de subérine pour les

myrtilles (gauche) et les tomates cerises (droite). obtenu par extraction à 493K 0 min 9MPa (0 min signifie qu'une fois que la température a été atteinte, le réacteur a été arrêté. Cela entraîne un contact entre le méthanol et la biomasse à la température cible qui dure environ 30 secondes.

5 Dans les différentes figures, les mêmes signes de référence font référence aux éléments identiques ou analogues.

Description des modes de réalisation illustratifs

La présente invention sera décrite par rapport à des modes de réalisation particuliers et en référence à certains dessins, mais l'invention n'est pas limitée
10 à ceux-ci mais seulement par les revendications. Les dessins décrits sont uniquement schématiques et ne sont pas limitatifs. Dans les dessins, la taille de certains éléments peut être exagérée et non dessinée à l'échelle à des fins illustratives. Les dimensions et les dimensions relatives ne correspondent pas à des réductions pratiques réelles de l'invention.

15 De plus, les termes premier, deuxième, troisième, et similaires dans la description et dans les revendications sont utilisés pour distinguer entre des éléments similaires et non nécessairement pour décrire une séquence, que ce soit temporellement, spatialement, en termes de classement, ou de toute autre manière. Il est entendu que les termes ainsi utilisés sont interchangeables dans
20 des circonstances appropriées et que les modes de réalisation de l'invention décrits ici sont capables de fonctionner dans d'autres séquences que celles décrites ou illustrées ici.

De plus, les termes haut, bas, au-dessus, en dessous et similaires dans la description et les revendications sont utilisés à des fins descriptives et non
25 nécessairement pour décrire des positions relatives. Il est entendu que les termes ainsi utilisés sont interchangeables dans des circonstances appropriées et que les modes de réalisation de l'invention décrits ici sont capables de fonctionner dans d'autres orientations que celles décrites ou illustrées ici.

Les termes "au-dessus" et "au-dessus de" sont utilisés comme
30 synonymes et couvrent des situations avec et sans contacts physiques. Le terme "sur" signifie "au-dessus et en contact physique avec".

Il est à noter que le terme "comprenant", utilisés dans les revendications, ne doit pas être interprété comme étant limité aux moyens énumérés ensuite ; il n'exclut pas d'autres éléments ou étapes. Il doit donc être interprété comme spécifiant la présence des caractéristiques, des entiers, des étapes ou des composants énumérés, mais ne précluent pas la présence ou l'ajout d'autres caractéristiques, entiers, étapes, composants ou groupes de ceux-ci. Le terme "comprenant" dans le cadre de l'invention comprend donc également une réalisation dans laquelle aucun autre composant n'est présent. Ainsi, la portée de l'expression "un dispositif comprenant des moyens A et B" ne doit pas être interprétée comme étant limitée à des dispositifs composés uniquement des composants A et B. Cela signifie que, pour ce qui concerne la présente invention, les seuls composants pertinents du dispositif sont A et B.

Référence tout au long de cette spécification à "un mode de réalisation" signifie qu'une caractéristique, une structure ou une caractéristique particulière décrite en relation avec le mode de réalisation est incluse dans au moins un mode de réalisation de la présente invention. Ainsi, les occurrences des expressions "dans un mode de réalisation" ou "dans un mode de réalisation" à différents endroits de cette spécification ne se réfèrent pas nécessairement toutes au même mode de réalisation, mais peuvent le faire. De plus, les caractéristiques, structures ou caractéristiques particulières peuvent être combinées de manière appropriée, comme cela serait évident pour une personne ordinaire du métier à partir de cette divulgation, dans un ou plusieurs modes de réalisation.

De même, il convient de noter que, dans la description d'exemples de modes de réalisation de l'invention, diverses caractéristiques de l'invention sont parfois regroupées dans un seul mode de réalisation, une figure ou une description à des fins de simplification de la divulgation et pour faciliter la compréhension de un ou plusieurs des différents aspects inventifs. Cependant, cette méthode de divulgation ne doit pas être interprétée comme reflétant une intention selon laquelle l'invention revendiquée nécessite plus de caractéristiques que celles expressément énoncées dans chaque revendication. Au contraire, comme le reflètent les revendications suivantes, les aspects inventifs résident dans moins de toutes les caractéristiques d'un seul

mode de réalisation précédemment divulgué. Ainsi, les revendications suivant la description détaillée sont expressément incorporées dans cette description détaillée, chaque revendication constituant à elle seule un mode de réalisation distinct de cette invention.

5 De plus, bien que certains modes de réalisation décrits ici comprennent certaines caractéristiques mais pas d'autres caractéristiques incluses dans d'autres modes de réalisation, des combinaisons de caractéristiques de différents modes de réalisation sont censées être dans le cadre de l'invention et former différents modes de réalisation, comme cela serait compris par ceux du
10 métier. Par exemple, dans les revendications suivantes, l'un quelconque des modes de réalisation revendiqués peut être utilisé dans n'importe quelle combinaison.

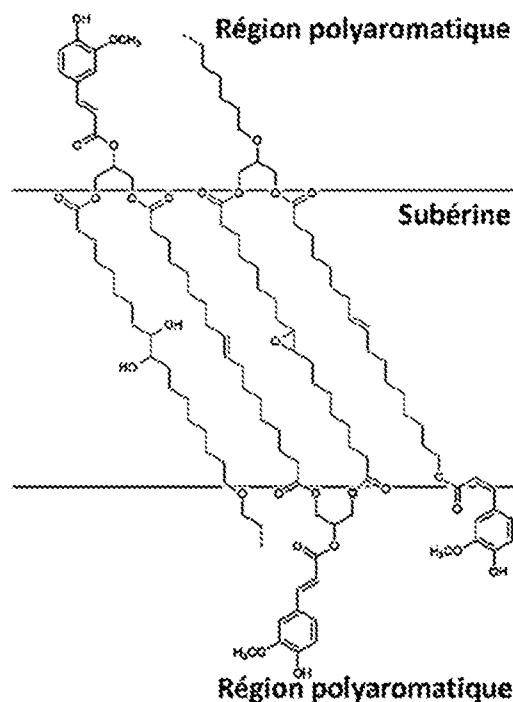
De plus, certains des modes de réalisation décrits ici sont décrits comme un procédé ou une combinaison d'éléments d'un procédé qui peut être mis en
15 œuvre par un processeur d'un système informatique ou par d'autres moyens de réalisation de la fonction. Ainsi, un processeur avec les instructions nécessaires pour mettre en œuvre un tel procédé ou élément d'un procédé forme un moyen de réalisation du procédé ou de l'élément d'un procédé. De plus, un élément décrit ici d'un mode de réalisation d'un appareil est un exemple d'un moyen de
20 réalisation de la fonction effectuée par l'élément aux fins de la réalisation de l'invention.

Dans la description fournie ici, de nombreux détails spécifiques sont exposés. Cependant, il est entendu que des modes de réalisation de l'invention peuvent être mis en œuvre sans ces détails spécifiques. Dans d'autres cas, des
25 méthodes, des structures et des techniques bien connues n'ont pas été détaillées afin de ne pas obscurcir la compréhension de cette description.

Les termes suivants sont fournis uniquement pour faciliter la compréhension de l'invention.

Dans le contexte de l'invention, la subérine désigne un polymère d'origine
30 biologique principalement présent chez les plantes supérieures. Cette substance organique cireuse est imperméable. Elle est principalement présente dans les parois cellulaires des tissus souterrains ainsi que dans l'écorce. La subérine contient deux domaines : celui des polyaliphatiques et celui des

polyaromatiques essentiellement formés de dérivés d'acide hydroxycinnamique. La composition exacte de la subérine varie en fonction de l'espèce. Une représentation de la structure de la subérine est la suivante :



5 Exemples :

L'éthanol, le méthanol, l'acétone et le dichlorométhane ont été achetés chez Scharlab. Le Jeffamine EDR-148 a été fourni par TCI. Le N,O-Bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide:Triméthylchlorosilane (BSTFA:TMCS 99:1). Tous les réactifs et solvants ont été utilisés tels quels.

10 Les expériences ont été réalisées sur l'écorce de chêne (*Quercus robur*), les pelures de pommes de terre (*Solanum tuberosum* var Nicola, Belgique) et les pelures de manioc (*Manihot esculenta* var Valencia, Costa Rica et var Nase, Rwanda). Les pommes de terre et le manioc ont été pelés manuellement et soumis à un traitement enzymatique tel que décrit par Schreiber, L. et al., Planta
15 220, 520–530 (2005). L'écorce de chêne a été obtenue dans une scierie locale. Les deux échantillons ont ensuite été séchés et broyés à 1 mm avec un Pulverisette 25 (Fritsch). Les échantillons obtenus sont ensuite désignés comme bruts.

20 Les échantillons bruts ont été successivement extraits à l'eau, à l'éthanol et au dichlorométhane dans un appareil Soxhlet. Les échantillons obtenus sont désignés comme extraits.

Les extractions ont été réalisées dans un réacteur en lot avec une pression auto-générée. Les mêmes extractions peuvent également être réalisées à plus grande échelle dans un réacteur tubulaire (par exemple, un réacteur tel que décrit dans dos Santos, P. R. S. et al., *The Journal of*
5 *Supercritical Fluids* 126, 25–36 (2017).) avec les avantages de réduire le coût énergétique opérationnel (c'est-à-dire en réduisant la quantité de solvant à chauffer) et le coût de l'équipement.

Pour chaque extraction de subérine, 1 g d'échantillon extrait séché a été suspendu dans du méthanol et chauffé à la température souhaitée dans un
10 système de réacteur Parr série 5000 de 75 mL (Parr Instrument Co, Illinois, USA). La transésterification supercritique (TESC) et la transésterification quasi-supercritique (TEQSC) ont été réalisées à 418, 473, 493, 518, 543 ou 553K avec un volume de méthanol suffisant pour atteindre la pression souhaitée. Une fois la température atteinte, le chauffage dans le réacteur a été soit arrêté (c'est-à-
15 dire un traitement de "0 minute" qui dure en réalité 30 secondes car une fois le chauffage dans le réacteur arrêté, la température ne descend en dessous de la température cible qu'après environ 30 secondes), soit maintenu pendant la durée souhaitée. Ensuite, le réacteur a été refroidi à l'air à 333K, le mélange réactionnel a été filtré sous vide sur un disque en verre fritté (porosité de 16 μm
20 - 40 μm), le rétentat a été rincé deux fois avec 20 mL de méthanol préchauffé à 333K. Les filtrats ont été regroupés, ajustés à 100 mL et désignés comme fraction liquide, tandis que le rétentat est désigné comme résidu solide. Les résidus solides ont été utilisés pour l'analyse FTIR, la lignine Klason et l'analyse des polysaccharides.

25 La fraction liquide a ensuite été évaporée avec un évaporateur rotatif (Rotavapor®, Büchi Labortechnik), récupérée successivement avec de l'eau, du dichlorométhane et de l'acétone trois fois. Les fractions d'eau ont été regroupées et utilisées pour la mesure du glycérol, les fractions de dichlorométhane et d'acétone ont été regroupées et utilisées pour l'analyse
30 FTIR et la mesure des acides carboxyliques.

Pour chaque extraction de subérine, 30 g d'échantillon brut séché (manioc ou chêne) ont été suspendus dans du méthanol et chauffés à 493K pendant 0 minute avec 320 g de méthanol dans un réacteur Parr série 5500 de

600 mL (Parr Instrument Co, Illinois, USA) contrôlé par un système Parr 4848. Une fois la température atteinte, le réacteur a été arrêté et refroidi à l'eau à 333K. Cela entraîne un contact entre le méthanol et la biomasse à la température cible qui dure environ 30 secondes avant de commencer à baisser.

- 5 Les mélanges réactionnels ont été regroupés, filtrés et la fraction liquide a été séchée dans un évaporateur rotatif (Rotavapor®, Büchi Labortechnik) à 60°C.

Rendements massiques de subérine : Le rendement massique de l'extrait subérinique a été calculé en pesant le résidu après séchage de 10 mL de fraction liquide pendant la nuit à 100°C. Les résultats sont exprimés en pourcentage du poids sec initial.

FTIR : les mesures ont été effectuées sur un spectromètre Vertex 70 (Bruker, Allemagne) équipé d'un dispositif d'atténuation totale réfléchie (ATR) en diamant. 16 scans ont été enregistrés pour chaque échantillon sur la plage de 400 à 4000 cm^{-1} avec une résolution de 2 cm^{-1} .

- 15 Glycérol : La détermination du glycérol a été réalisée à l'aide d'un kit commercial (K-GCROLGK®, Megazyme, Irlande).

Acides carboxyliques : les échantillons ont été saponifiés dans du KOH éthanolique (0,2 M) pendant 1 h à température d'ébullition. La détermination a été réalisée par titrage du KOH restant par HCl (0,04 M) par rapport à un témoin.

- 20 Les résultats sont exprimés en mmol de fonctions acides carboxyliques pour 1 g de biomasse traitée.

Lignines et polysaccharides : la composition structurale a été déterminée à l'aide de techniques bien documentées, notamment la lignine Klason et l'hydrolyse acide des polysaccharides suivie d'une dérivation (Schmetz, Q. et al. Industrial Crops and Products 94, 308–317 (2016)).

- 25 Identification partielle de la composition de l'extrait subérinique : Les fractions liquides obtenues à partir de chêne (518K 60min 7,5MPa et 493K 0min 9MPa) et de manioc var Nase (493K 0min 9MPa) ont été analysées pour une analyse compositionnelle. 0 min signifie qu'une fois la température atteinte, le réacteur a été arrêté. Cela entraîne un contact entre le méthanol et la biomasse à la température cible qui dure environ 30 secondes. Tout d'abord, 1 ml d'échantillon a été évaporé sous azote, dissous dans 300 μl de N,O-Bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide (BSTFA):Triméthylchlorosilane (TMCS)

99:1 (Sigma Aldrich®, Allemagne) et 200 μ L de dichlorométhane et incubé à 60°C pendant 1 h. Les échantillons dérivatisés ont ensuite été injectés dans un GC-MS Agilent 5973N (Agilent Technologies, USA). Les chromatogrammes ont été analysés à l'aide du logiciel Enhanced Chemstation D.01.02.16 (Agilent Technologies, USA) en utilisant les bibliothèques spectrales Nist17 et Wiley275. Les résultats sont exprimés en pourcentage de l'aire du pic sur l'aire totale du pic.

Une analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel R version 4.1.2 (2021-11-01) avec le package agricolae. Une régression linéaire et un test de Tukey HSD ont été réalisés pour évaluer une différence statistiquement significative. Une analyse en composantes principales (PCA) a été réalisée avec les packages RcmdR, factomineR et factoextra.

La relation entre les spectres FTIR acquis sur les fractions liquides de chêne et la mesure du glycérol de ces fractions (n=24) a été étudiée afin de déterminer une équation de prédiction. Les calculs ont été effectués à l'aide de R. Tout d'abord, les spectres FTIR ont été standardisés ou dérivés (1er ou 2e ordre) ou une combinaison des deux. Les valeurs aberrantes ont été filtrées à partir des ensembles de données résultants en calculant une régression des moindres carrés partiels avec un procédé d'échantillonnage Leave One Out (PLSr-LOO) en utilisant l'erreur résiduelle prédite somme des carrés (PRESS) du premier nombre minimum local de composantes comme critère. Les nombres d'onde faiblement corrélés à la mesure du glycérol ont été filtrés à partir des ensembles de données en calculant cent itérations de l'algorithme Competitive Adaptive Reweighted Sampling (CARS) - PLSr-LOO en utilisant le poids résultant comme critère. Les ensembles de données résultants ont été calculés par PLSr-LOO. Le RPD a été considéré pour évaluer lequel des modèles résultants était le meilleur.

Exemple 1 : cinétique de la transestérification supercritique (TESC) de la subérine

Des extractions modèles ont été réalisées comme décrit dans la figure 1 sur des matériaux subérolignés sélectionnés (c'est-à-dire l'écorce de chêne, les pelures de pommes de terre et les pelures de manioc), en utilisant du méthanol en conditions supercritiques (518K, 8,3MPa) pendant 60 minutes sans

supplémentation de catalyseur. Un extrait des trois matériaux différents a été obtenu, allant de 6,59% à 20,85% de la masse traitée (figure 2). L'utilisation de pelures a généré les ratios d'extraction les plus élevés, presque deux fois (20,85%) de la quantité précédemment décrite dans Gandini, A. et al., Suberin: A promising renewable resource for novel macromolecular materials. Prog. Polym. Sci 31, 878–892 (2006)) (12,1%). En revanche, le ratio d'extraction généré à partir de l'écorce est plus faible (6,59%) que celui précédemment décrit dans Gandini, A. et al. (39,7%). L'analyse FTIR a montré la présence d'une bande forte entre 1740 et 1700 cm^{-1} dans le matériau brut (prétraitement) et l'extrait, tandis que la bande est absente dans le matériau post-traitement (résidu) (voir figure 7). Cette bande est généralement attribuée à l'étirement C=O des liaisons ester et indique le caractère subérinique de l'extrait produit. Les spectres FTIR ont également révélé d'autres bandes typiques de la subérine : étirements symétriques des groupes méthylène (C-H) et méthyle (C-H, CH₃) à 2850 cm^{-1} ; étirements asymétriques des groupes méthylène (C-H) à 2925 cm^{-1} ; étirements des cycles aromatiques à 1438, 1462 et 1469 cm^{-1} .

Pour déterminer l'impact de la procédure d'extraction sur la composition des polysaccharides et de la lignine, une cinétique d'extraction a été réalisée sur les pelures de manioc entre 0 et 60 minutes. Ici, 0 minutes signifie qu'une fois la température atteinte, le réacteur a été arrêté. Cela entraîne un contact entre le méthanol et la biomasse à la température cible qui dure environ 30 secondes. L'analyse cinétique (figure 3) a montré que le niveau maximal d'extraction est atteint après les premières 30 minutes du processus à 518K 8,3MPa. L'extraction semblait se dérouler en deux phases. Au cours de la première phase (c'est-à-dire entre 0 et 20 minutes), environ 11,5% des composés de subérine ont été extraits. Les 18,3% restants ont été extraits au cours de la deuxième phase (de 20 à 60 minutes). Ce résultat a été corroboré par la mesure de la libération de glycérol, qui a indiqué une libération séquentielle de glycérol (0-20 min, 30-50 min et 60 min) (figure 3) ; sans être lié par une théorie, il est supposé suggérer qu'il existe soit un ordre préférentiel entre les esters aliphatiques primaires et les différents esters d'acylglycérol, soit qu'il existe des domaines de subérine présentant une résistance contrastée à la transestérification. Cette dernière hypothèse pourrait être liée à la subéran, une

structure cristalline identifiée dans la subérine illustrée par sa résistance à la saponification.

Une deuxième étape (entre 60 et 240 minutes) a confirmé qu'après 60 minutes, aucune modification significative du rendement de l'extrait subérinique, de la teneur en polysaccharides et en lignines n'a été observée (voir figure 8), ce qui implique que les polysaccharides et les lignines ne sont pas extraits. Il est également intéressant de noter qu'après 60 minutes de traitement, la teneur en lignine mesurée dans les pelures de *Manihot esculenta* et de *Solanum tuberosum* a diminué proportionnellement à la quantité d'extrait subérinique (voir tableau 1).

Tableau 1 : Composition de la lignine dans la biomasse avant et après traitement exprimée en pourcentage de matière sèche. Brut = composition initiale ; TESC 1h : résidu solide après méthanolyse supercritique à 518K 60 min 8,3MPa ; AIL = Lignine Insoluble dans l'acide ; ASL = Lignine Soluble dans l'acide. Différentes lettres indiquent des différences statistiquement significatives ($P \leq 0,05$, test de Tukey HSD, $n=3$).

		Lignine (%MS)	
		AIL	ASL
<i>Solanum tuberosum</i>	brut	57.04 ± 2.91 ^a	5.74 ± 0.70 ^a
pelures	TESC 1h	40.59 ± 0.84 ^b	1.53 ± 0.19 ^b
<i>Manihot esculenta</i>	brut	41.15 ± 6.93 ^a	1.95 ± 0.58 ^a
pelures	TESC 1h	36.62 ± 2.54 ^b	1.26 ± 0.13 ^a
<i>Quercus robur</i>	brut	38.74 ± 0.71 ^a	2.76 ± 0.20 ^a
écorces	TESC 1h	41.36 ± 0.76 ^b	2.59 ± 0.37 ^a

Ce résultat suggère que la subérine provenant des écorces est mesurée comme des lignines dans la matière première.

20

Exemple 2 : Extraction près du point critique de la subérine

Dans cet exemple, les paramètres d'extraction (température, pression, durée) ont été optimisés afin de réduire la consommation d'énergie et de contrôler le degré de dépolymérisation de l'extrait de subérine.

Plusieurs extractions ont été réalisées sur l'écorce de chêne pour étudier
5 l'effet de la température (418-553K), de la pression (1,1-17,5 MPa) et de la durée (0-60 min) sur le rendement de l'extrait et le degré de dépolymérisation. L'état de dépolymérisation de l'extrait de subérine a été déterminé par la mesure à la fois de la libération de glycérol par transestérification et du rapport molaire des liaisons ester dans l'extrait.

10 Dans des conditions subcritiques, une simple augmentation de la température (Tableau 2, traitement 2 et 7) ou de la pression (Tableau 2, traitement 3 et 4) n'a pas entraîné un rendement beaucoup plus élevé, mais une diminution du rapport molaire des acides carboxyliques au glycérol (c'est-à-dire une dépolymérisation plus élevée). Sous des conditions supercritiques, une
15 augmentation de la pression (Tableau 2, traitement 11 et 12) a entraîné un rendement d'extraction plus élevé et un rapport molaire des acides carboxyliques au glycérol plus élevé (c'est-à-dire une dépolymérisation plus faible). Remarquablement, des températures plus élevées ont systématiquement conduit à des rendements plus faibles (Tableau 2, traitement
20 8, 11 et 13).

Un traitement plus long (Tableau 2, traitement 3 et 5 ; 4 et 6 ; 7 et 9 ; 8 et 10) a systématiquement entraîné un rendement et une dépolymérisation plus élevés pour le solvant compressible, tandis que pour les autres états du solvant, le rendement est resté le même. L'analyse en composantes principales (figure
25 4) met en évidence le fait que les rendements et les degrés de dépolymérisation sont fortement influencés par l'état physique du solvant. Aucune subérine n'a été extraite pour une température de 418K (tableau 2) dans les conditions testées.

Tableau 2 : Effet de la température (T en K), de la pression (P en MPa),
30 de la durée (min) et de l'état physique du solvant (PSS, L pour liquide, CL pour liquide compressible, G pour gazeux, SCF pour fluide supercritique) sur l'extraction et la dépolymérisation de la subérine de l'écorce de chêne en utilisant le méthanol. Différentes lettres indiquent des différences

statistiquement significatives ($P \leq 0,05$, Tukey HSD, $n=3$).

T - P - Dur. - PSS				Extrait de subérine (%)	Glycérol(‰)	COOH/Glycerol rapport molaire
1	418	[<7.0]	0 L	0.0 ± 0.0^a	0 ± 0^a	-
2	473	[7.0-8.0]	0 L	5.0 ± 0.1^b	0 ± 0.01^{ab}	5501 ± 2009^d
3	493	[8.1-10.0]	0 CL	7.2 ± 0.5^{cd}	0.05 ± 0.01^{ac}	2755 ± 584^c
4	493	[>14.5]	0 CL	7.6 ± 0.5^{cd}	0.06 ± 0^{ac}	1601 ± 1003^b
5	493	[8.1-10.0]	60 CL	10.0 ± 0.1^{fg}	0.24 ± 0.04^{cd}	817 ± 129^{ab}
6	493	[>14.5]	60 CL	10.4 ± 0.3^{fg}	0.2 ± 0.02^{cd}	640 ± 377^{ab}
7	518	[7.0-8.0]	0 G	5.4 ± 0.1^{bc}	0.17 ± 0.03^{ad}	1037 ± 220^{ab}
8	518	[8.1-10.0]	0 SCF	9.1 ± 0.3^{di}	0.13 ± 0.02^{bcd}	1154 ± 407^{ab}
9	518	[7.0-8.0]	60 G	4.6 ± 0.2^b	1.07 ± 0.03^g	176 ± 13^a
10	518	[8.1-10.0]	60 SCF	9.8 ± 0.0^{eis}	0.58 ± 0.02^f	262 ± 81^a
11	543	[10.1-13.4]	0 SCF	7.5 ± 0.1^{cde}	0.48 ± 0.02^{ef}	262 ± 110^a
12	543	[13.4-14.5]	0 SCF	11.3 ± 0.8^g	0.36 ± 0.01^{de}	518 ± 84^{ab}
13	553	[8.1-10.0]	0 SCF	3.8 ± 0.2^b	0.98 ± 0.02^g	157 ± 55^a

De manière intéressante, cette expérience a confirmé que la transestérification, qui se produit à une vitesse lente dans des conditions proches du point critique, est suffisante pour extraire efficacement le matériau de subérine lorsque la transestérification complète n'est pas souhaitée. Cette observation permet de réduire considérablement la quantité d'énergie nécessaire pour chauffer le méthanol et donc le coût du processus. On peut également supposer que la subérine et les fragments de subérine soumis à une température largement supérieure à leur température de fusion rapportée (entre 56 et 103°C) deviennent de plus en plus solubles dans l'alcool et facilitent leur migration hors de la biomasse. Les alcools appropriés comprennent le méthanol, l'éthanol, le propanol, l'isopropanol ou un mélange de ceux-ci. L'alcool peut également être utilisé en mélange avec d'autres solvants tels que l'eau, par exemple. Le dioxyde de carbone supercritique pourrait également être utilisé, de préférence en combinaison avec un alcool.

Tableau 3 : principales molécules identifiées dans l'extrait de subérine. * Identification réalisée à l'aide de la base de données NIST17 ; ** identification provisoire. Les résultats sont donnés en pourcentage de surface de pic par rapport à la surface totale de pic. 0 min signifie environ 30 secondes.

	Chêne		Manioc	Indice de rétention
	518K 60min 7,5MPa	493K 0min 9MPa	493K 0min 9MPa	
Triacylglycérol (TAG)	3,1	11,6	1,5	
Gly-1,2,3-C(8:0)*	/	1,9	/	2954
Gly-2-C(10:0)-1,3-C(8:0)*	1,4	5,0	1,0	3135
Gly-2-C(8:0)-1,3-C(10:0)*	1,7	4,6	0,4	3542
Monoacylglycérol (MAG)	3,7	0,6	52,0	
Gly-2-C(16:0)-1,3-diOH*	/	/	1,2	2570
Gly-2,3-diOH-1-C(16:0)*	1,3	0,6	31,9	2606
Gly-2-C(18:0)-1,3-diOH*	/	/	/	2765
Gly-2,3-diOH-1-C(18:0)*	2,4	/	18,9	2802
α, ω-acide dicarboxylique (ADC)	1,1	/	/	
9,10-epoxy-C(18:0)**	1,1	/	/	2765
ω-Hydroxy acides gras (HAG)	12,5	/	4,7	
12,18-OH-C(18:1)**	/	/	4,7	2228
18-OH-C(18:1)*	12,5	/	/	2228
18-OH-9,10-diOH-C(18:0)*	/	/	/	2782
Acides gras (AG)	25,9	20,1	10,9	
C(16:0)*	9,4	4,9	4,6	2054
C(18:0)*	8,8	4,0	4,0	2253
C(19:0)*	7,7	11,2	2,4	2347

5

Sur la base de ces données, leur composition a été analysée par GC-MS (tableau 3) pour vérifier si des conditions d'extraction douces favorisent l'extraction de structures plus grandes (c'est-à-dire des acylglycérols au lieu d'acides gras). Nous avons donc choisi deux types d'extraction avec une dépolymérisation supposée plus élevée (518K 60min 7.5MPa) et plus faible (493K 0min 9MPa) à partir d'écorce de chêne. Nous avons également analysé une extraction à partir de pelure de manioc (493K 0min 9MPa) pour vérifier si, pour des conditions d'extraction similaires, différentes matières premières donnent des extraits similaires. 0 min signifie qu'une fois la température atteinte, le réacteur a été arrêté. Cela entraîne un contact entre le méthanol et la biomasse à la température cible qui dure environ 30 secondes. Les deux types

15

d'extraction étaient à l'état subcritique, respectivement gazeux et liquide compressible.

En ce qui concerne la dépolymérisation, l'analyse GC-MS a révélé que les extractions ayant la plus forte teneur en glycérol libre ont également la plus faible teneur en triacylglycérols (TAG) (3,1% contre 11,6% de la surface totale des pics (TPA)), ce qui soutient l'hypothèse d'un degré plus élevé de dépolymérisation. On s'attendait à ce que les conditions de dépolymérisation légère des pelures de manioc fournissent un profil similaire compte tenu de leur faible libération de glycérol (tableau 2). Cependant, au lieu de TAG, nous avons observé une proportion importante de monoacylglycérols (52% de la TPA).

Dans l'ensemble, les profils montrent une grande quantité d'acides gras C16 à C19 (tableau 3), de 10,9% à 25,9% de la surface totale des pics (TPA), dans les trois extraits de subérine sélectionnés. Cette observation suggère la survenue d'une hydrolyse plutôt que d'une alcoololyse (c'est-à-dire une transestérification) dans les conditions utilisées pour l'extraction. L'hydrolyse des triglycérides a été précédemment rapportée comme une première étape dans la production de biodiesel lorsqu'elle est soumise à des conditions d'eau supercritique. Une telle hydrolyse n'était pas attendue car la phase aqueuse pendant l'extraction était limitée à l'eau résiduelle de l'échantillon et au méthanol et considérée comme négligeable.

Sans être liée par la théorie, on pense que la survenue préférentielle de l'hydrolyse dans le chêne (25,9% de la TPA) par rapport au manioc (10,9% de la TPA) pourrait être due à une différence dans leur structure de subérine. Le rapport molaire des acides carboxyliques au glycérol dans les extraits de chêne (écorce) et de manioc (pelures) soumis aux mêmes traitements a révélé une proportion plus élevée d'acides carboxyliques au glycérol dans le chêne par rapport au manioc (Tableau 4).

Tableau 4 : Effet de la température (T en K), de la pression (P en MPa), de la durée (min) et de l'état physique du solvant (PSS, CL pour liquide compressible, G pour gazeux) sur l'extraction et la dépolymérisation de la subérine d'écorce de chêne (E-Qr) et de pelures de manioc (E-Me) à l'aide de méthanol. Différentes lettres indiquent des différences statistiquement

significatives (P ≤ 0,05, Tukey HSD, n=3).

Biomasse - T° - P° - Dur. - PSS	Sub. ext. (%)	Glycérol (mg/g)	COOH/Gly. Rapport molaire
E-Qr 493 [81-100] 0 CL	7.2 ± 0.5 ^b	0.05 ± 0.01 ^a	2755 ± 584 ^b
E-Qr 518 [70-80] 60 G	4.6 ± 0.2 ^a	1.07 ± 0.03 ^b	176 ± 13 ^a
E-Me 493 [81-100] 0 CL	10.3 ± 0.2 ^c	0.2 ± 0.06 ^a	281 ± 129 ^a
E-Me 518 [70-80] 60 G	15.7 ± 2.4 ^d	1.1 ± 0.03 ^b	65 ± 7 ^a

Cette observation est conforme aux études précédentes qui ont rapporté des niveaux plus élevés d'esters aliphatiques primaires dans la subérine de liège par rapport à la subérine de pelure de pomme de terre (Bento, A. et al., ACS Sustainable Chemistry and Engineering 9, 15780–15792 (2021)). De même, l'extrait subérinique d'écorce de chêne pourrait être composé d'une proportion plus élevée d'esters aliphatiques primaires par rapport à l'extrait subérinique de manioc. Étant donné que ces deux types d'esters sont connus pour avoir une sensibilité différente au clivage, cela pourrait expliquer pourquoi nous avons obtenu de meilleurs rendements d'extraction par rapport aux études précédentes pour les pelures et moins bons pour l'écorce.. Il est intéressant de noter que nous avons également réussi à prédire efficacement la quantité de glycérol libérée lors du traitement en analysant les spectres FTIR de l'extrait (Fig. 6), ce qui peut être un outil utile pour déterminer rapidement le degré de dépolymérisation de l'extrait obtenu.

Exemple 3 : utilisation de subérine légèrement dépolymérisée pour le revêtement des aliments

Les extraits de chêne et de manioc obtenus dans des conditions de dépolymérisation légère (493K 0min 9MPa) ont été sélectionnés afin de tester des applications industrielles. 0 min signifie qu'une fois la température atteinte, le réacteur a été arrêté. Cela entraîne un contact entre le méthanol et la biomasse à la température cible qui dure environ 30 secondes. Les conditions d'extraction ont été choisies afin de conserver l'état natif de la subérine et ainsi préserver ses caractéristiques d'origine. En effet, des études antérieures ont déjà démontré que la subérine légèrement dépolymérisée, obtenue à l'aide d'un liquide ionique, est naturellement capable de reconstruire un réseau de

molécules de subérine (Garcia, H. et al., *Biomacromolecules* 15, 1806–1813 (2014)).

Les extraits subériniques sont généralement décrits dans la littérature comme des pâtes cireuses ou huileuses de couleur brun foncé, ce qui est
5 cohérent avec l'apparence des subérines obtenues dans des conditions de dépolymérisation intense. Dans la présente invention, l'extrait subérinique obtenu dans des conditions de dépolymérisation légère apparaissait sous forme de poudre brune vitreuse pour le chêne et sous forme de pâte brune pour le manioc. Cette différence indique une température de transition vitreuse plus
10 élevée par rapport à la subérine rapportée dans l'article de Bento et al.

Outre leur compatibilité potentielle avec les extraits subériniques obtenus dans des modes de réalisation de la présente invention, les expériences sur les applications industrielles des extraits subériniques obtenus dans des modes de réalisation de la présente invention ont été choisies pour leur importance
15 économique, sociale et environnementale.

Les extraits subériniques obtenus dans des modes de réalisation de la présente invention peuvent être utilisés comme additif biologique dans les polymères. Par exemple, ils peuvent être utilisés dans les polyuréthanes. Par exemple, ils peuvent être utilisés dans les mousses de polyuréthane.
20 Avantageusement, ils peuvent être utilisés pour augmenter la viscosité d'une formulation pour une mousse de polyuréthane sans isocyanate autogonflante. Avantageusement, ils peuvent moduler la morphologie des mousses de polyuréthane sans isocyanate. Avantageusement, ils peuvent être utilisés pour augmenter la teneur en produits biosourcés dans un polymère.

25 Cependant, les inventeurs de la présente invention ont vu un potentiel pour les extraits subériniques obtenus dans des modes de réalisation de la présente invention dans le revêtement des aliments (par exemple, les fruits et légumes). En particulier, la nature biosourcée des extraits et leurs propriétés cireuses en font un candidat potentiel pour prévenir la perte d'eau dans les
30 aliments.

Afin de tester le potentiel des extraits subériniques pour fournir un revêtement biosourcé, leur application sur les fruits et légumes a été testée. L'objectif était d'évaluer la capacité du revêtement à base de subérine à prévenir

la perte d'eau et à prolonger la durée de conservation des myrtilles et des tomates cerises.

Pour tester l'aptitude des extraits subériniques à être utilisés comme revêtements pour les fruits et légumes, des myrtilles et des tomates cerises ont été pulvérisées avec une solution éthanolique d'extrait subérinique obtenu dans des conditions de dépolymérisation légère (493K 0min 9MPa) à deux concentrations différentes (c'est-à-dire 10 et 50 mg/ml). (0 min signifie qu'une fois la température atteinte, le réacteur a été arrêté. Cela entraîne un contact entre le méthanol et la biomasse à la température cible qui dure environ 30 secondes.

L'extrait subérinique de manioc et de chêne (493K 0min 9MPa) a été séché et dissous dans de l'éthanol avec des concentrations de 10 et 50 mg/mL. 0 min signifie qu'une fois la température atteinte, le réacteur a été arrêté. Cela entraîne un contact entre le méthanol et la biomasse à la température cible qui dure environ 30 secondes. La suspension a été pulvérisée 4 fois pendant 10 secondes sur chaque fruit à l'aide d'un pulvérisateur. Un total de 10 tomates cerises et 5 groupes de 3 myrtilles ont été utilisés pour chaque condition. Le traitement simulé consistait à pulvériser uniquement de l'éthanol et le témoin à ne pas pulvériser.

Les fruits ont ensuite été stockés dans une chambre de croissance MLR-352H-PA (Panasonic, Japon) à 25°C, 50% d'humidité et un côté éclairé pendant 202 heures. Les fruits ont été pesés une fois par jour.

Les résultats ont montré des différences significatives dans la perte d'eau des myrtilles et des tomates cerises traitées avec des extraits subériniques par rapport au traitement simulé (figures 5 et 6). Les myrtilles ont présenté une réduction de 26% et 19% de la perte d'eau quotidienne moyenne sur 200h lorsqu'elles étaient revêtues respectivement d'un extrait subérinique de chêne à 50 mg/ml et d'un extrait subérinique de manioc à 50 mg/ml (figure 9) par rapport au traitement placebo. La réduction de la perte d'eau pour les tomates cerises était de 25% après pulvérisation avec des extraits de manioc à 10 mg/ml et 50 mg/ml ou un extrait de chêne à 10 mg/ml.

Les bonnes performances des extraits subériniques ouvrent de nouvelles opportunités pour l'approvisionnement en biomatériaux destinés aux

applications de revêtement. Étant donné l'importance des pertes après récolte dans les régions tropicales où les pelures de manioc sont disponibles en grande quantité, les extraits subériniques de manioc pourraient offrir des solutions de revêtement bon marché et durables pour prolonger la durée de conservation des fruits, des légumes ainsi que des racines tubéreuses.

Il est entendu que, bien que des modes de réalisation préférés, des constructions et configurations spécifiques, ainsi que des matériaux, aient été discutés ici pour les dispositifs selon la présente invention, divers changements ou modifications de forme et de détail peuvent être apportés sans sortir du cadre de cette invention. Par exemple, toutes les formules données ci-dessus ne sont que représentatives des procédures qui peuvent être utilisées. La fonctionnalité peut être ajoutée ou supprimée des diagrammes en blocs et les opérations peuvent être interchangées entre les blocs fonctionnels. Des étapes peuvent être ajoutées ou supprimées dans les méthodes décrites dans le cadre de la présente invention.

Revendications

1. Un procédé d'extraction de la subérine à partir de biomasse comprenant l'exposition de biomasse comprenant de la subérine à un solvant à
5 une pression et à une température, ladite température étant de 92% à 107%, de
préférence de 92% à 106%, de préférence de 92% à 105%, de préférence de
92% à 104%, de préférence de 92% à 103%, de préférence de 92% à 102%,
de préférence de 92% à 101%, de préférence de 92% à 100%, de préférence
de 92% à 99%, de préférence de 92% à 98%, de préférence de 92% à 97%, de
10 préférence de 92% à 96%, de la température critique en K du solvant à ladite
pression.

2. Le procédé selon la revendication 1, dans lequel le solvant comprend
un alcool, du dioxyde de carbone supercritique, ou une combinaison des deux.

15

3. Le procédé selon la revendication 2, dans lequel l'alcool est choisi
parmi le méthanol, l'éthanol, le n-propanol, l'isopropanol et leurs mélanges.

4. Le procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes,
20 dans lequel le solvant est du méthanol et dans lequel la température est de 473K
à 549K, de préférence de 473K à 544K, de préférence de 473K à 539K, de
préférence de 473K à 534K, de préférence de 473K à 529K, de préférence de
473K à 524K, de préférence de 473K à 519K, de préférence de 473K à 513,4K,
de préférence de 473K à 508K, de préférence de 473K à 503K, de préférence
25 de 473K à 498K, de préférence de 473K à 493K, et à une pression d'au moins
7,0 MPa.

5. Le procédé selon la revendication 4, dans lequel la température est de
473K à 513,4K, dans lequel la pression est au plus de 10,0, de préférence au
30 plus de 9,0.

6. Le procédé selon la revendication 5, dans lequel la température est de
473K à 495K et dans lequel la pression est de 8,0 Mpa à 10,0, de préférence

de 8,5 à 9,5 MPa.

7. Le procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans lequel le solvant est du méthanol à une température supérieure à 513,4K et à
5 une pression d'au moins 8,0 MPa, de préférence d'au moins 9,0 MPa, de préférence d'au moins 10,0 MPa, de préférence d'au moins 11,0 MPa, de préférence d'au moins 12,0 MPa, de préférence d'au moins 13,4 MPa.

8. Le procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes,
10 dans lequel la biomasse est exposée au méthanol à ladite pression et à ladite température pendant au moins 1 seconde, de préférence pendant au moins 5 secondes.

9. Le procédé selon la revendication 8, dans lequel la biomasse est
15 exposée au méthanol pendant au plus 60 minutes, de préférence pendant au plus 5 minutes, de préférence pendant au plus 2 minutes.

10. Le procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel aucun catalyseur n'est présent pendant l'exposition de la biomasse
20 au méthanol.

11. Le procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la biomasse est l'écorce d'un tubercule ou l'écorce d'un arbre.

25 12. Le procédé selon la revendication 11, dans lequel le tubercule est un tubercule féculent, de préférence d'une pomme de terre ou d'un manioc.

13. Utilisation de la subérine pour le revêtement des aliments.

30 14. Utilisation selon la revendication 13, dans laquelle l'aliment est choisi parmi un fruit, un légume ou une racine tubéreuse.

15. Utilisation selon la revendication 13 ou 14, dans laquelle la subérine est présente dans une solution comprenant de l'éthanol, dans laquelle la subérine est présente en une quantité de 10 et 50mg/ml.

5 16. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 13 à 15, dans laquelle la subérine est obtenue par le procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12.

10 17. Une solution pour le revêtement des aliments comprenant de la subérine dans une solution comprenant de l'éthanol, dans laquelle la subérine est présente en une quantité de 10 et 50mg/ml.

18. Un spray comprenant la solution selon la revendication 17.

15 19. Une composition de subérine comprenant moins de 0,10‰, de préférence au plus de 0,06‰, de préférence au plus de 0,05‰ de glycérol sur une base de poids sec.

20 20. La composition de subérine selon la revendication 19 comprenant au moins 7,1%, de préférence de 8,0% à 90,0%, de préférence de 9,0% à 80,0%, de préférence de 10,0% à 70,0%, de préférence de 11,0% à 60,0%, de préférence de 12,0% à 55,0% de triacylglycérol, de monoacylglycérol ou une combinaison des deux sur une base de poids sec.

25 21. La composition de subérine selon la revendication 19 ou la revendication 20 comprenant moins de 1,0%, de préférence moins de 0,8%, de préférence moins de 0,6%, de préférence moins de 0,4% d'acides α , ω -dicarboxyliques sur une base de poids sec.

30 22. La composition de subérine selon l'une quelconque des revendications 19 à 21 comprenant moins de 12,0%, de préférence moins de 10,0%, de préférence moins de 8,0%, de préférence moins de 6,0%, de

préférence moins de 5,0% d'acides ω -hydroxy gras sur une base de poids sec.

23. La composition de subérine selon l'une quelconque des revendications 19 à 22 comprenant moins de 25,0%, de préférence de 5,0% à 5 24,0%, de préférence de 6,5% à 23,0%, de préférence de 8% à 22,0%, de préférence de 8,5% à 21,0%, encore plus préférablement de 10,0% à 20,5% d'acides gras non hydroxylés sur une base de poids sec.

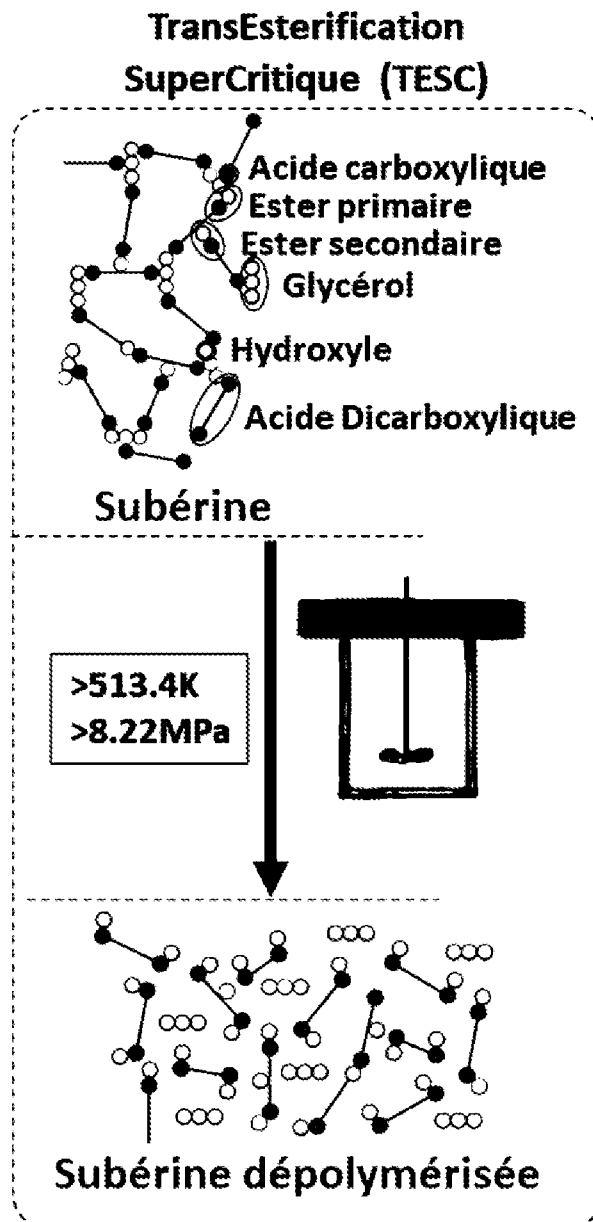
24. Un extrait de subérine pouvant être obtenu par l'un quelconque des 10 procédés selon les revendications 1 à 12.

15

20

25

30

**FIG. 1**

TESC à 518K, 8.3MPa pendant 60 min

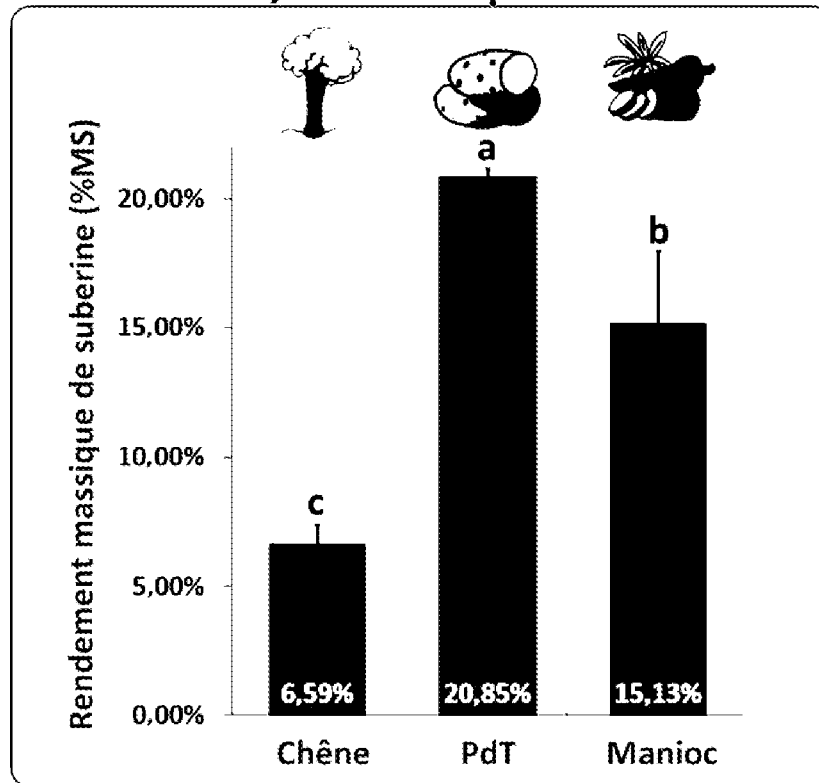
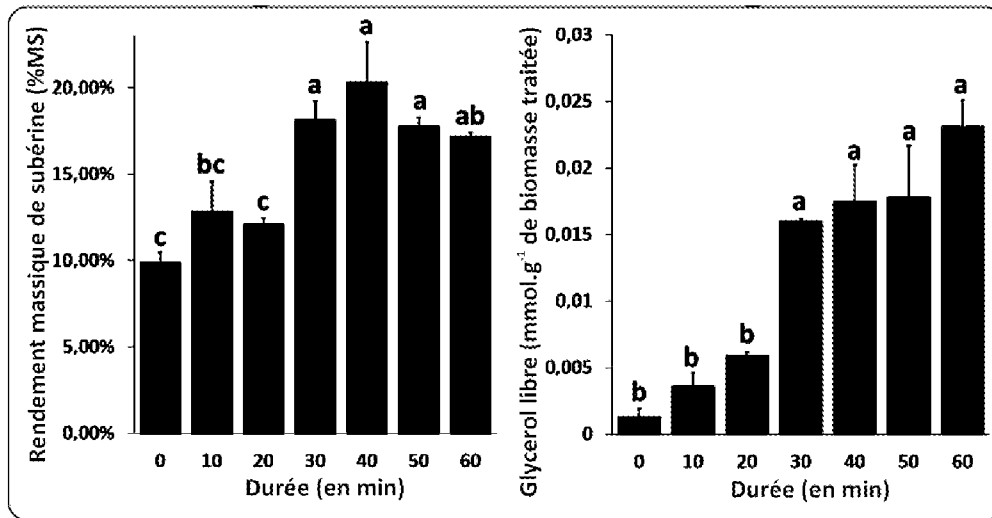


FIG. 2

**FIG. 3**

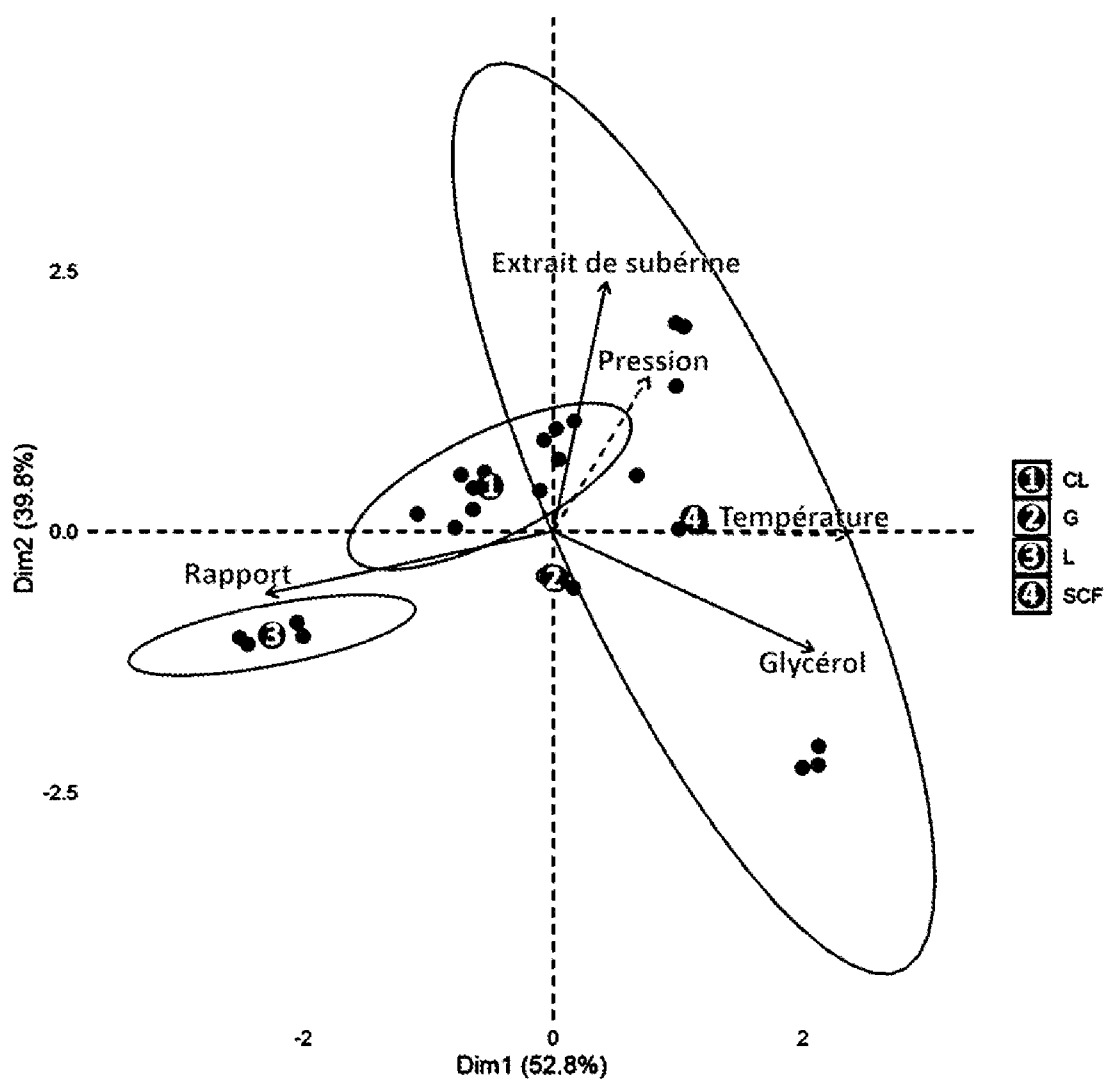


FIG. 4

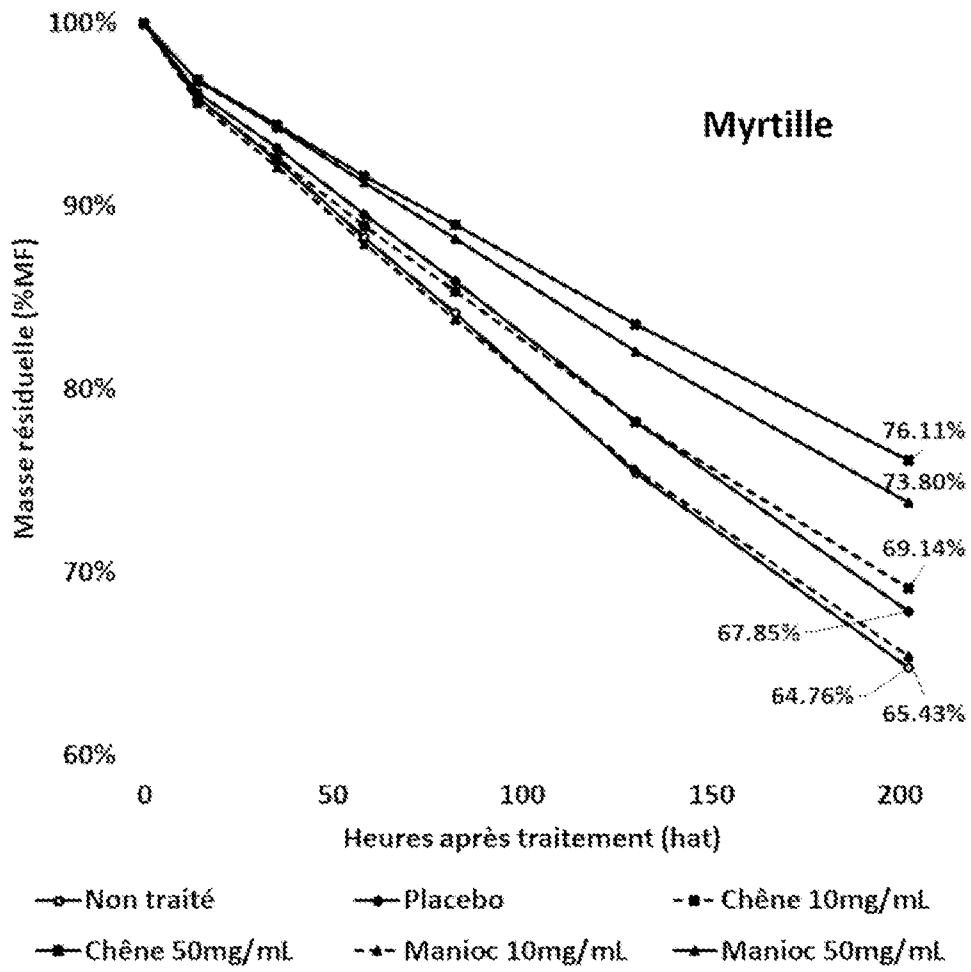


FIG. 5

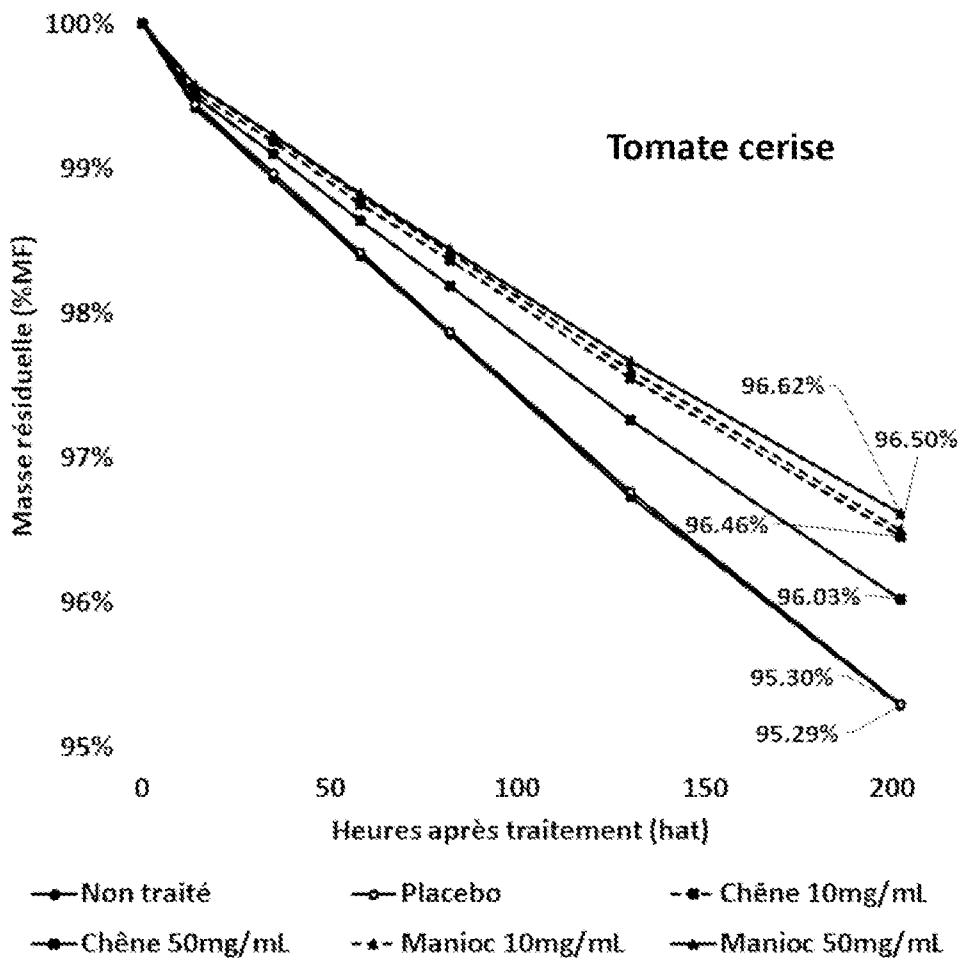
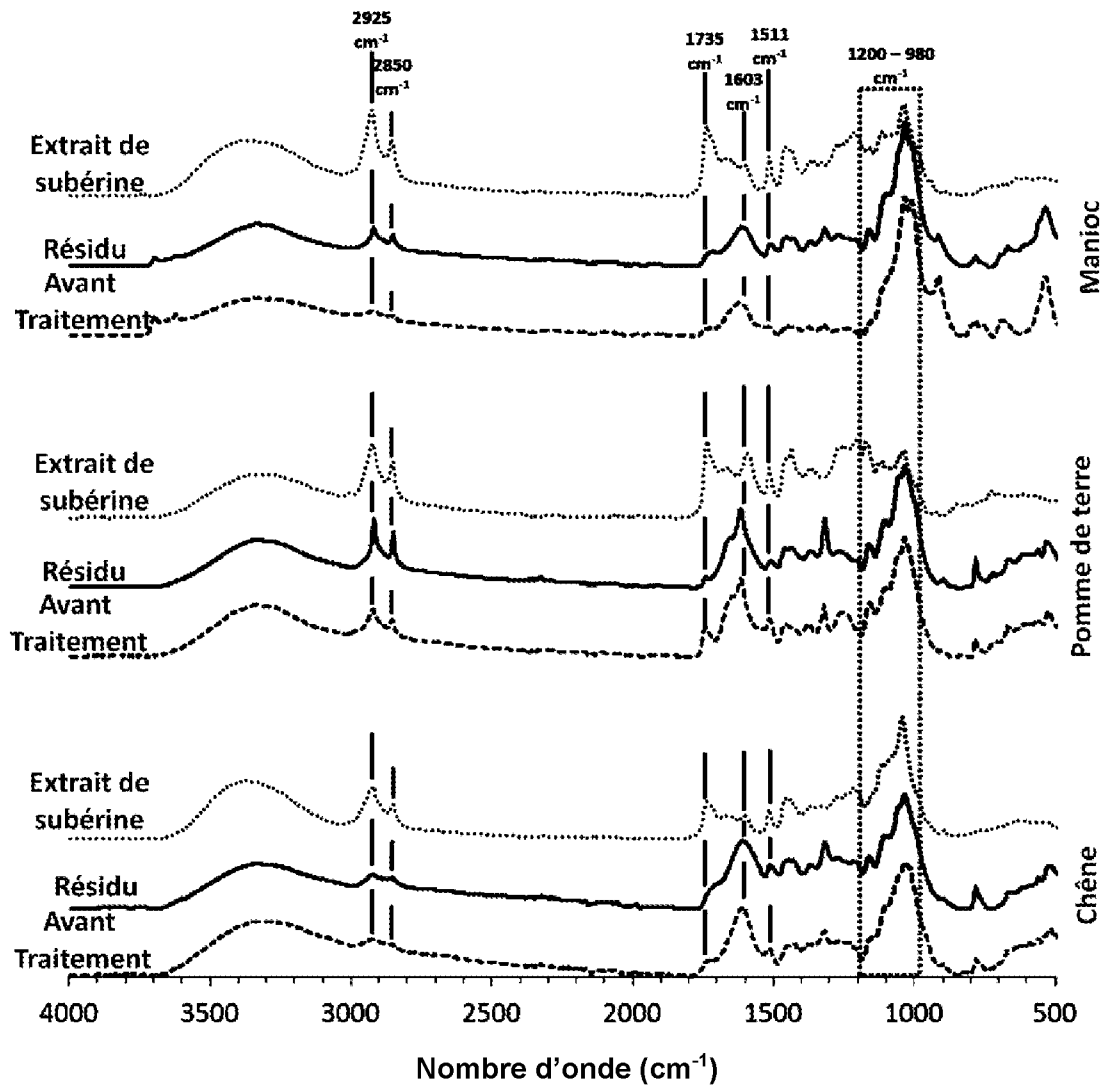
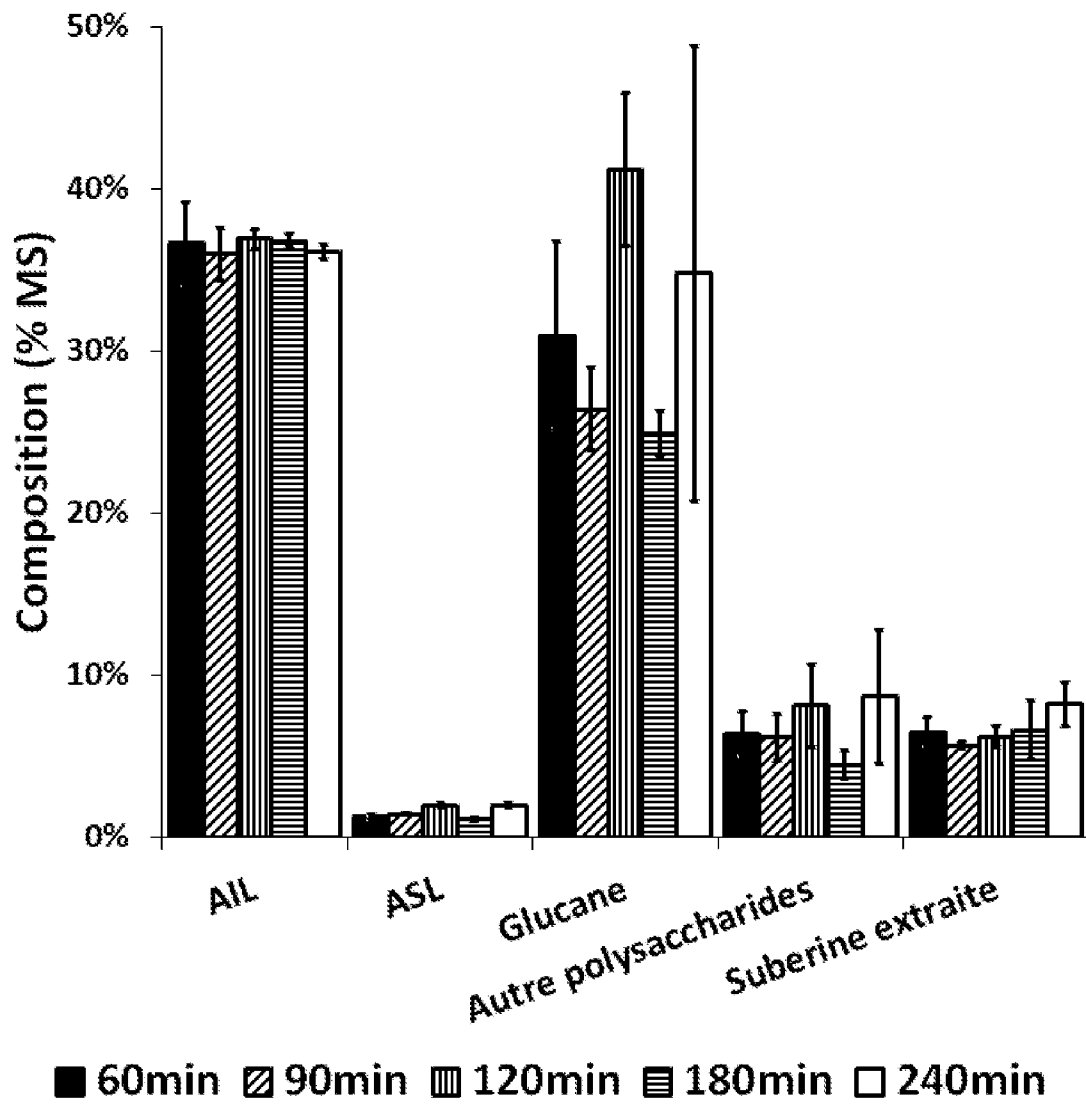


FIG. 6

**FIG. 7**

**FIG. 8**

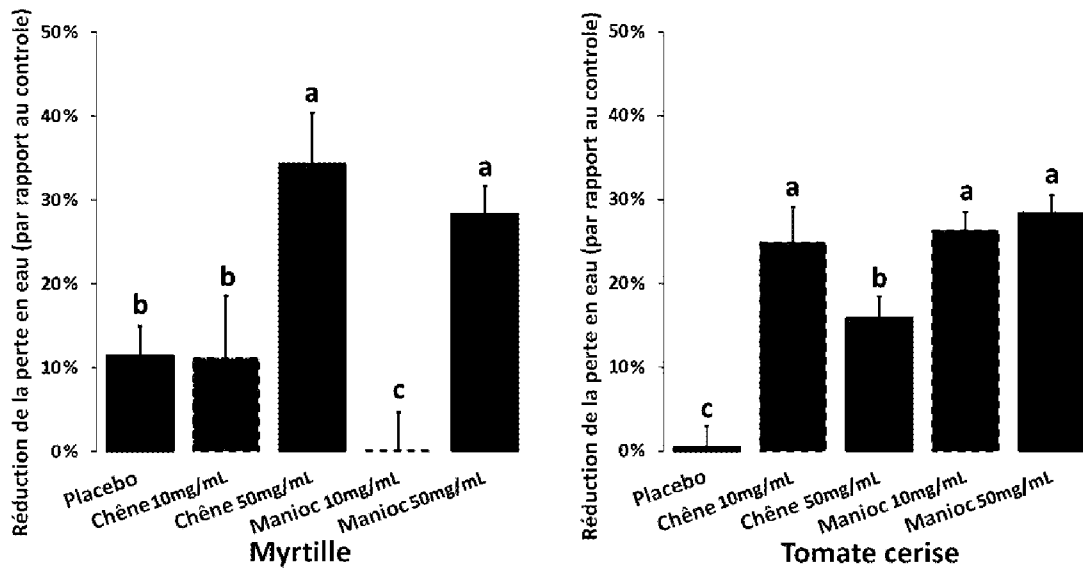


FIG. 9