(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

COURBEVOIE

(11) **N° de publication :** ***3 061 176***

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

(21) **N° d'enregistrement national :** **16 63205**

(51) Int Cl[8] : ***C 07 C 39/235*** *(2017.01), A 01 N 31/08*

(12) **BREVET D'INVENTION** **B1**

(54) PREPARATION D'UN EXTRAIT DE BIOMASSE SECHE RICHE EN POLYPHENOLS.

(22) **Date de dépôt :** 22.12.16.

(30) **Priorité :**

(43) **Date de mise à la disposition du public de la demande :** 29.06.18 Bulletin 18/26.

(45) **Date de la mise à disposition du public du brevet d'invention :** 11.09.20 Bulletin 20/37.

(56) **Liste des documents cités dans le rapport de recherche :**

Se reporter à la fin du présent fascicule

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

◯ **Demande(s) d'extension :**

(71) **Demandeur(s) :** *ANTOFENOL Société par actions simplifiée* — FR.

(72) **Inventeur(s) :** ROLET FANNY et FABRE LUDOVIC.

(73) **Titulaire(s) :** ANTOFENOL Société par actions simplifiée.

(74) **Mandataire(s) :** LTL SAS.

FR 3 061 176 - B1

PRÉPARATION D'UN EXTRAIT DE BIOMASSE SÈCHE RICHE EN POLYPHENOLS

DOMAINE DE L'INVENTION

La présente invention concerne un procédé de préparation d'un extrait de biomasse végétale sèche, en particulier de parties de vigne, riche en polyphénols, l'extrait obtenu et son utilisation pour des applications antifongiques, en particulier pour la prévention et le traitement des infections fongiques sur les fruits et légumes après récolte.

ETAT DE LA TECHNIQUE

Les extraits de biomasse végétale riches en polyphénols sont connus de l'homme du métier. De nombreux travaux se sont intéressés à l'extraction d'une biomasse pour obtenir un extrait riche en polyphénols, tous présentant plusieurs inconvénients quant à la viabilité économique des procédés, comme des rendements faibles ou des temps d'extraction très longs, ou limitant leur usage post extraction, et notamment l'usage de solvants organiques toxiques (Goupil et al. 2012, Alexa et al. 2012, Sanchez et al. 2008, Pezet et al. 2004).

Des études ont montré qu'il était possible d'améliorer les procédés d'extraction de biomasse par des traitements micro-ondes, ultra-sons ou encore à haute température (Quan et al. 2006, CN 104 177 463, CN 104 435 135, CN 102 757 512, CN 104 256 432, CN 104 256 641, CN 103 783 506, CN 102 757 509, CN 101 816 349), par exemple pour la préparation de biodiesel (CN 19 35 947). Certains préconisent un traitement à haute température sous haute pression (Casazza et al. 2010).

Toutefois, de tels traitements à haute température peuvent altérer les propriétés des extraits obtenus et ne seront pas adaptés pour la mise en œuvre d'un procédé industriel sur des grands volumes de matière première et de solvants.

Il existe un besoin pour un procédé efficace d'extraction d'une biomasse pour préparer un extrait riche en polyphénols qui soit à la fois efficace, plus économe et respectueux des propriétés de la biomasse concernant ses polyphénols.

EXPOSE DE L'INVENTION

La présente invention concerne un procédé de préparation d'un extrait de biomasse végétale sèche, en particulier un extrait de *Vitis sp.*, riche en polyphénols comprenant (a) une étape d'extraction de la biomasse sèche par sa mise ne contact avec un solvant aqueux et (b) une étape de récupération de la phase aqueuse enrichie en polyphénols, caractérisé en ce que dans l'étape d'extraction (a), le mélange biomasse végétale / solvant aqueux est traité de manière simultanée ou séquentielle par la combinaison

(i) des ondes électromagnétiques de fréquence allant de 915 MHz et 28GHz, et/ou

(ii) un brassage du mélange, et/ou

(iii) une pression de 50 à 950 mbars (5 000 à 95 000 Pa).

L'invention concerne également l'extrait susceptible d'être obtenu par ce procédé et son utilisation pour des applications antifongiques, en particulier pour la prévention et le traitement des infections fongiques sur les fruits et légumes après récolte.

DESCRIPTION DETAILLEE DE L'INVENTION

L'invention concerne la préparation d'un extrait riche en polyphénols par extraction d'une biomasse sèche avec un solvant aqueux.

Par solvant aqueux, on entend selon l'invention de l'eau ou un mélange alcool aliphatique / eau, en particulier éthanol / eau. Dans ce cas, le mélange alcool / eau, en particulier éthanol / eau, comprend de 10 à 70 % en volume d'éthanol. Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, le solvant aqueux est un mélange éthanol / eau comprenant de 15 à 40% d'éthanol.

La biomasse végétale selon l'invention est une biomasse qui est elle même connue pour contenir des polyphénols, en particulier du trans-resvératrol, trans-ε-viniférine, trans-picéatannol et trans-vitisine. L'homme du métier connaît bien cette biomasse provenant de plantes connues pour contenir ces polyphénols, employées seules ou en mélanges, généralement des plantes dicotylédones comme la vigne, le thé ou encore la renouée du Japon, plus particulièrement la vigne. Pour la biomasse selon l'invention, on prendra les plantes entières ou des parties de plantes, plus particulièrement des parties aériennes des plantes comme les fruits, les fleurs, les feuilles, les tiges, les branches ou des fragments de troncs (ceps), et leurs mélanges. Le cas échéant, la biomasse peut aussi comprendre ou être constituée de racines de plantes.

La biomasse est sèche, c'est à dire obtenue par séchages des plantes ou des parties de plantes précitées. Le séchage peut être réalisé par toute méthode connue de l'homme du métier. Avantageusement, le séchage est réalisé en laissant les plantes ou leurs parties sécher à l'air libre. Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, les plantes ou leurs parties séparées sont mises à sécher à l'air libre qui va de 1 mois à 4 ans, de préférence de 1 à 2 ans.

De manière préférentielle, la biomasse sèche est constituée de parties sèches de plantes de genre Vitis, notamment *Vitis vinifera Vitis labrusca, Vitis riparia, Vitis rupestris, Vitis berlandieri, Vitis amurensis, Vitis coignetiae, Vitis vulpina, Vitis acerifolia, Vitis aestivalis, Vitis rotundifolia et plus particulièrement Vitis vinifera.* Selon un mode

avantageux de réalisation de l'invention, la biomasse sèche comprend ou est constituée de sarments de vigne.

De manière avantageuse, cette biomasse séchée est constituée de fragments de plantes, en particuliers des broyats de plantes ou de parties de plantes. De manière préférentielle, les fragments ont une granulométrie inférieure à 1 cm, plus préférentiellement inférieure ou égale à 5 mm, plus préférentiellement allant de 1 à 5 mm. Cette granulométrie de fragments/broyats de matière sèche est mesurée selon les méthodes usuelles bien connues de l'homme du métier.

La fragmentation des végétaux secs sera réalisée selon les méthodes usuelles connues de l'homme du métier. Selon un mode particulier de réalisation de l'invention, ces fragments sont obtenus d'abord en déchiquetant la matière sèche pour obtenir des fragments de 1 à 20 cm qui sont ensuite broyés pour obtenir les fragments de préférence de 1 à 5 mm, qui correspondent à une granulométrie préférée pour l'extraction.

L'homme du métier saura déterminer les quantités de solvant d'extraction à employer par rapport à la quantité de biomasse. Avantageusement, le rapport en masse biomasse végétale sèche / solvant aqueux va de 1/5 à 1/30, préférentiellement de 1/10 à 1/20.

Le procédé selon l'invention se caractérise par la combinaison d'au moins deux contraintes appliquées simultanément ou successivement sur le mélange d'extraction (biomasse / solvant) :

(i) des ondes électromagnétiques de fréquence allant de 915 MHz et 28GHz,

(ii) de brassage, et/ou

(iii) une pression de 50 à 950 mbars.

Par brassage simultané ou séquentiel, on entend selon l'invention que le traitement par microondes et au moins le brassage et/ou la pression inférieure ou égale à 950 mbars sont mis en œuvre au même moment, ou bien l'un après l'autre, notamment selon des séquences (i) + (ii), ou (i) + (iii), ou (i) + (ii) + (iii), ou [(i) , (ii)] + (iii), ou [(ii), (iii)] + (i), selon l'ordre de son choix. En cas de traitement séquentiel, l'homme du métier pourra choisir de répéter chaque séquence plusieurs fois, voir de combiner des séquences différentes selon un programme prédéterminé, éventuellement combinées avec une ou plusieurs séquences de traitement simultané.

Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, les trois traitements sont mis en œuvre simultanément [(i), (ii), (iii)].

L'étape a) de peut également comprendre un traitement (iv) par ultrasons. Ce traitement pourra être appliqué séquentiellement ou simultanément avec les traitements (i), (ii) et/ou (iii) définis précédemment.

Les ondes électromagnétiques de fréquence allant de 915 MHz et 28GHz correspondent à des ondes du domaine des micro-ondes. L'homme du métier saura choisir la fréquence la plus adaptée à la mise en œuvre du procédé, notamment en fonction de la biomasse, pour optimiser le procédé d'extraction. De manière avantageuse, la fréquence des ondes électromagnétiques va de 915 MHz à 2,45 GHz. De manière avantageuse, la fréquence des ondes électromagnétiques sera choisie en fonction des dispositifs industriels connus de génération d'ondes électromagnétiques à une échelle industrielle, en particulier des générateurs d'ondes de fréquences inférieures à 1500 MHz, plus avantageusement d'environ 915 MHz.

L'homme du métier saura également choisir la puissance des ondes la plus adaptée à la biomasse et aux extraits obtenus. La puissance des ondes électromagnétiques va avantageusement de 300 W à 100 kW, plus avantageusement de 1 à 75 kW.

Cette puissance sera choisie en particulier en fonction du volume à traiter et du temps qui sera nécessaire à l'extraction. Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, la puissance des ondes électromagnétiques sont choisies selon le rapport suivant : pour 1 kg de matière à extraire la puissance des ondes électromagnétiques est de 1 à 10 kW idéalement 2 à 6 kW.

De manière avantageuse, le temps d'extraction sera d'au moins 20 min, voire d'au moins 30 min et de préférence inférieur à 125 min, étant entendu qu'un temps trop court peut être associé à des conditions de puissance trop fortes susceptibles d'altérer la biomasse quant un temps trop long peut conduire à une dégradation des produits extraits, et donc dans les deux cas un risque de perte de polyphénols.

Le procédé selon l'invention est adapté pour une mise en œuvre sur différents volumes de mélange biomasse/solvant, en particulier sur des d'au moins 1 L, préférentiellement d'au moins 5 L. Le procédé selon l'invention est plus particulièrement adapté à l'extraction industrielle de biomasse séchée. De manière avantageuse, le procédé sera mis en œuvre sur des volumes de mélange biomasse/solvant d'au moins 30 L, pouvant aller à plus de 50 L, voire plus de 100 L. Selon les réacteurs d'extraction à disposition de l'homme du métier, le procédé selon l'invention peut être employé sur des volumes de plus de 200 L.

Le mélange biomasse/solvant est soumis à un brassage (ii), ledit brassage (ii) étant mis en œuvre préférentiellement en même temps que le traitement par ondes électromagnétiques (i). Ce brassage s'avère important pour permettre aux ondes électromagnétiques d'atteindre l'ensemble du mélange à défaut duquel seule la surface du mélange serait soumise à l'action de ces ondes.

L'homme du métier connaît les moyens adaptés à la mise en œuvre d'un brassage en fonction des volumes de mélange à traiter. On connaît notamment des moyens de mise en rotation du mélange à traiter, généralement au moyen de pales en rotation à l'intérieur du mélange, ou encore en des moyens de mise en rotation du réacteur contenant le mélange à traiter. L'homme du métier pourra envisager d'autres moyens de brassage, comme une mise en mouvement du mélange par bullage d'air ou de gaz inerte. De manière préférentielle, le brassage est réalisé par mise en rotation du mélange à une vitesse de rotation pouvant aller de 3 à 20 tours par minute, plus préférentiellement au moyen de pales en rotation à l'intérieur du mélange.

L'homme du métier saura choisir les moyens de mise en rotation les mieux adaptés pour une mise en œuvre dans un environnement soumis à un traitement par ondes électromagnétiques, susceptibles de générer des arcs électriques.

Le procédé comprend également une mise en dépression (iii) du mélange, de préférence pendant le traitement par ondes électromagnétiques (i) et le brassage (ii).

L'homme du métier connaît bien les moyens nécessaires à l'obtention d'une dépression (ou vide partiel) dans une enceinte comprenant un mélange à traiter. Ces moyens industriels permettent d'obtenir une pression allant de 50 à 950 mbars (5 000 à 95 000 Pa). Il saura choisir une pression adaptée en fonction des volumes à traiter. En particulier, pour des volumes industriels tels que décrits précédemment, il sera avantageux de traiter le mélange à une pression de 50 à 950 mbars (5 000 à 95 000 Pa), préférentiellement de 50 à 500 mbars (5 000 à 50 000 Pa).

Dans la mesure où le procédé comprend également un traitement par ultrasons, l'homme du saura choisir la fréquence comme la puissance des ultrasons. De manière avantageuse, la fréquence des ultrasons va de 25 kHz à 1 MHz. Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, la puissance des ultrasons va de 200 à 4000 W.

L'invention concerne également un procédé tel que défini précédemment et dans les exemples, qui comprend une étape (c) additionnelles de concentration des plyphénols par évaporation partielle ou totale du solvant aqueux.

Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, cette concentration (c) se fait par lyophilisation de la phase aqueuse récupérée.

Selon un mode particulier de réalisation de l'invention, la biomasse séchée est soumise, préalablement à l'étape a) d'extraction, à une lixiviation par un solvant approprié pour éliminer les sucres. L'homme du métier saura déterminer les conditions de cette lixiviation en fonction de la biomasse séchée et de sa teneur en sucres.

L'élimination des sucres, selon la biomasse traitée, sera importante pour l'obtention d'un extrait riche en polyphénols aux propriétés antifongiques. En effet, il est apparu que

la présence de sucres pouvait avoir un effet antagoniste à l'activité antifongique des polyphénols en favorisant la croissance des champignons.

L'invention concerne aussi un extrait de biomasse riche en polyphénols susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'invention. Ces extraits ont, de manière avantageuse 4 molécules d'intérêts qui sont des polyphénols de la famille des stilbènes. Ces 4 molécules sont trans-picéatannol, trans-resvératrol, trans-ε-viniférine et trans-vitisine. De manière préférée, l'extrait contient au moins 2 fois plus de trans-ε-viniférine (voire au moins 2,5 fois plus) au moins 3 fois plus trans-vitisine (voire au moins 6 fois plus) qu'un extrait éthanolique conventionnel.

L'invention concerne également une composition comprenant un extrait susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'invention et un véhicule approprié pour son utilisation.

Il peut s'agir d'une composition antifongique destinée à être appliquée sur les plantes avant ou après récolte, ou une composition pharmaceutique. De telles compositions sont connues et l'homme du métier saura déterminer le véhicule approprié par rapport à cet usage.

La présente invention concerne en particulier une composition phytopharmaceutique comprenant au moins l'extrait tel que décrit précédemment et au moins un agent de formulation compatible. Cette composition phytopharmaceutique peut-être sous forme sèche, par exemple sous forme de poudre ou sous forme de granules, ou bien sous forme liquide par exemple sous forme de suspension, de dispersion concentrée ou non, de gel, d'émulsion…

L'agent de formulation est un agent naturel ou issu de la chimie de synthèse, et classiquement utilisé dans des compositions phytopharmaceutiques.

L'agent de formulation peut être un dispersant, un stabilisant, un tensioactif, un conservateur, un agent mouillant, un agent d'adhésion, un tampon, un régulateur de pH, un photoprotecteur. Ils peuvent être utilisé seul ou en mélange.

L'extrait susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'invention comme les compositions qui le contiennent sont appropriés en particulier pour une utilisation dans la prévention et le traitement des infections fongiques sur les fruits et légumes après récolte.

L'invention concerne également un procédé pour prévenir et/ou traiter le développement de pourriture à champignons sur les fruits et légumes après récolte, ledit procédé comprenant l'application sur lesdits fruits et légumes une quantité appropriée d'extrait susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'invention tel que défini ci-dessus et dans les exemples.

Le procédé selon l'invention comprend la mise en œuvre de plusieurs techniques

combinées sur un même milieu d'extraction. Chaque technique (ondes électromagnétiques, ultrasons, dépression) et les moyens pour leur mise en œuvre sont bien connus (WO 2012/045923, EP 2 530 059, FR 2 976 062). L'homme du métier saura adapter les dispositifs existants d'extraction hydro-alcoolique de biomasse séchée pour leur appliquer ces traitements associés.

DESCRIPTION DES FIGURES

La **figure 1** représente une comparaison des quantités relatives de trans-picéatannol, de trans-resvératrol, de trans-ε-viniférine et de trans-vitisine contenus dans un extrait obtenu par le procédé selon l'invention et dans un extrait obtenu par un procédé conventionnel. Les valeurs affichées représentent les concentrations relatives (en unités arbitraires) de chacune des 4 molécules, calculées à partir des aires sous courbe des pics HPLC.

La **figure 2** représente la comparaison de l'activité antifongique d'un extrait obtenu par le procédé selon l'invention (sigles ronds) et d'un extrait obtenu par un procédé conventionnel (sigles carrés). Les valeurs affichées sont les moyennes, sur 3 conditions identiques, de l'efficacité (0% = croissance fongique normale ; 100% = aucune croissance fongique) à 4 jours post-inoculation, en fonction de la concentration en extrait.

EXEMPLES

Exemple 1, préparation d'un éco-extrait de sarment de *Vitis vinifera* :

Le matériel végétal de départ est du sarment de *Vitis vinifera* (rameaux aoutés). Les sarments sont séchés (à l'air libre ou dans une étuve). Une fois sec, les sarments sont d'abord déchiquetés en fragments de 2 à 10 cm puis broyé finement à une granulométrie comprise entre 1 et 5 mm.

La poudre de sarment de *Vitis vinifera* ainsi obtenue est extraite dans une solution aqueuse ou éthanolique 30%. La durée d'extraction est comprise entre 30 min et 1h30 préférentiellement 45 min à 60 min. Les techniques appliquées pour extraire sont les micro-ondes, les ultrasons le vide et le brasage en simultané. L'extrait ainsi obtenu est filtré sous vide à 20 microns. L'extrait est ensuite évaporé sous vide puis séché par atomisation ou par lyophilisation. L'extrait sec ainsi obtenu est ensuite stocké à température ambiante à l'abri de la lumière.

Exemple 2, caractérisation chimique de l'extrait de sarment de Vitis vinifera préparé selon l'exemple 1 :

5 mg de l'éco extrait de sarment de *Vitis vinifera* sec lyophilisé obtenu selon

l'exemple 1 ont été mis en solution dans 1 ml d'éthanol 50%. La solution est solubilisée puis centrifugé 10 min à 12000 rcf avant d'être injectée dans un système HPLC-MS (chromatographie liquide haute performance couplée à une spectroscopie de masse) dans les conditions suivantes.

Le volume d'extrait injecté est de 25µl. Les solvants de migration sont de l'eau ultrapure (0,1% acide formique) et de l'acétonitrile (0,1% acide formique). La séparation se fait en 55min à 1ml/min selon le gradient de solvant suivant :

Temps (min)	Acétonitrile (%)	Eau (%)
0	5	95
0,1	5	95,00
45	50	50,00
46	100	0,00
51	100	0,00
52	5	95,00
55	5	95,00

La colonne utilisée contient une phase stationnaire greffée avec des fonctions C18. La détection UV est réalisée entre 200 et 800nm. La détection de masse est réalisée en ESI, en mode négatif.

Quatre composés majoritaires sont obtenus dont les temps de rétention, les absorbances et les masses moléculaires sont représentées dans le tableau ci après.

Composé	Temps de rétention (min)	Maximum d'absorbance (nm)	Masse moléculaire (g/mol)
Trans-picéatannol	19	306 - **323**	244
Trans-resvératrol	23	**306** - 323	228
Trans-ε-viniférine	30	306 - **323**	454
Trans-vitisine	36	306 - **327**	906

La comparaison de la teneur en ces 4 composés avec un extrait éthanolique conventionnel est représentée sur la figure 1.

Exemple 3, action antifongique contre *Botrytis cinerea* :

Des spores de *Botrytis cinerea* sont déposés au fond de puits de plaques 96 puits transparentes, dans lesquels du milieu nutritif gélosé a été préalablement coulé.

L'éco-extrait de sarment de *Vitis vinifera* sec lyophilisé obtenu selon l'exemple 1, mis en solution à différentes concentrations (0g/l, 2,5g/l, 5g/l, 10g/l, 20g/l et 30g/l) dans de l'éthanol 8%, est ensuite déposé dans les puits.

Au bout de différents temps d'incubation à 21°C et à l'abri de la lumière, la densité relative du mycélium dans chaque puits est mesurée via une mesure d'absorbance à 800nm. L'efficacité antifongique est alors calculée à partir de ces valeurs d'absorbance.

L'efficacité antifongique, observée à 4 jours d'incubation, d'un extrait obtenu avec le procédé selon l'invention et d'un extrait obtenu avec un procédé conventionnel est représentée sur la figure 2. Les résultats sont similaires à ceux présentés dans la figure 2 jusqu'à au moins 15 jours d'incubation.

REFERENCES

Alexa, E., Poiana, M. A. & Sumalan, R. M. Mycoflora and ochratoxin a control in wheat grain using natural extracts obtained from wine industry by-products. *Int. J. Mol. Sci.* **13,** 4949–4967 (2012).

Casazza, A. a., Aliakbarian, B., Mantegna, S., Cravotto, G. & Perego, P. Extraction of phenolics from Vitis vinifera wastes using non-conventional techniques. *J. Food Eng.* **100,** 50–55 (2010).

Goupil, P. *et al.* Grape marc extract acts as elicitor of plant defence responses. *Ecotoxicology* **21,** 1541–1549 (2012).

Pezet, R., Gindro, K., Viret, O. & Spring, J. L. Glycosylation and oxidative dimerization of resveratrol are respectively associated to sensitivity and resistance of grapevine cultivars to downy mildew. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **65,** 297–303 (2004).

Quan, P. T., Hang, T. Van, Ha, N. H., De, N. X. & Tuyen, T. N. Microwave-assisted extraction of polyphenols from fresh tea shoot. *Sci. Technol. Dev.* **9,** 69–75 (2006).

Sanchez, J. B. J., Orea, J. M., Gonzalvez, A. G. & Urena, A. G. On the Use of the Own Plant's Defence Compounds to Maintain the Post-Harvest Fruit Quality. *Open Agric. J.* 43–48 (2008).

CN 104 177 463, CN 104 435 135, CN 102 757 512, CN 104 256 432, CN 104 256 641, CN 103 783 506, CN 102 757 509, CN 101 816 349, CN 19 35 947

EP 2 530 059

FR 2 976 062

WO 2012/045923,

REVENDICATIONS

1. Procédé de préparation d'un extrait de biomasse végétale sèche riche en polyphénols comprenant (a) une étape d'extraction de la biomasse sèche par sa mise ne contact avec un solvant aqueux et (b) une étape de récupération de la phase aqueuse enrichie en polyphénols, caractérisé en ce que dans l'étape d'extraction (a), le mélange biomasse végétale / solvant aqueux est traité de manière simultanée ou séquentielle par
   (i) des ondes électromagnétiques de fréquence allant de 915 MHz et 28GHz, et
   (ii) un brassage du mélange, et/ou
   (iii) une pression de 5 000 à 95 000 Pa (50 à 950 mbars).
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le solvant aqueux est de l'eau ou un mélange éthanol / eau comprenant de 10 à 70 % d'éthanol.
3. Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que le solvant aqueux est un mélange éthanol / eau comprenant de 30 à 50% d'éthanol.
4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le rapport en masse biomasse végétale sèche / solvant aqueux va de 1/5 à 1/30.
5. Procédé selon la revendication 4, caractérisé en ce que le rapport en masse biomasse végétale sèche / solvant aqueux va de 1/10 à 1/20.
6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que la fréquence des ondes électromagnétiques va de 915 MHz à 2,45 GHz.
7. Procédé selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que la puissance des ondes électromagnétiques va de 300 W à 100 kW.
8. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que la puissance des ondes électromagnétiques va de 1 à 75 kW.
9. Procédé selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que l'étape (a) de d'extraction comprend en outre un traitement (iv) par des ultrasons dont la fréquence va de 25 kHz à 1 MHz.
10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que la puissance des ultrasons va de 200 à 4000 W.
11. Procédé selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que la biomasse végétale est constituée de sarments de cépages de Vitis sp.
12. Procédé selon l'une revendication 1 à 11, caractérisé en ce qu'il comprend une étape (c) de concentration des plyphénols par évaporation partielle ou totale du solvant aqueux.
13. Procédé selon la revendication 12, caractérisée en ce que la concentration (c) se fait par lyophilisation de la phase aqueuse récupérée.

14. Extrait riche en polyphénols obtenu par le procédé selon l'une des revendications 1 à 13.
15. Composition caractérisée en ce qu'elle comprend un extrait selon la revendication 14 et un véhicule approprié pour son utilisation.
16. Utilisation d'un extrait selon la revendication 14 ou d'une composition selon la revendication 15 pour la prévention et le traitement des infections fongiques sur les fruits et légumes après récolte.

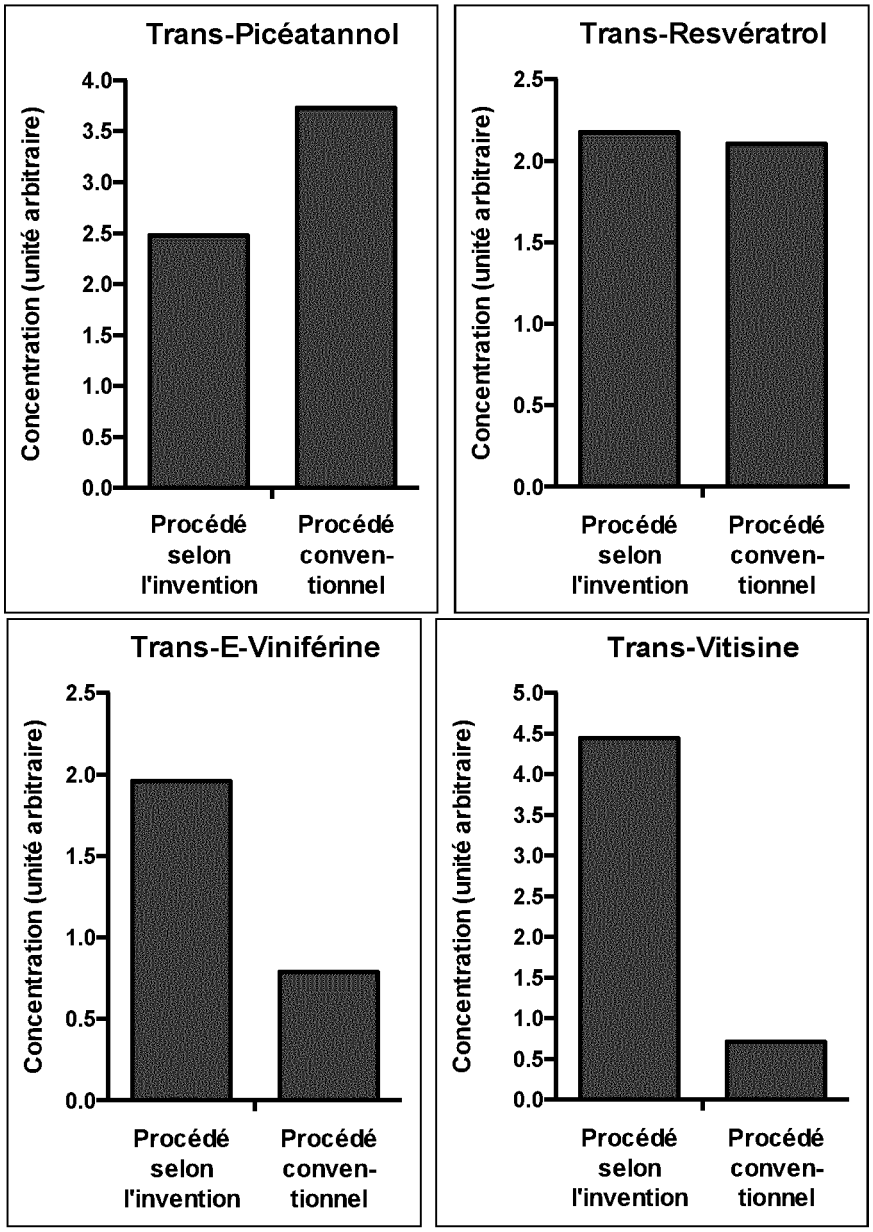
Trans-Picéatannol
Concentration (unité arbitraire)
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Procédé selon l'invention
Procédé conven-tionnel
Trans-Resvératrol
Concentration (unité arbitraire)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Procédé selon l'invention
Procédé conven-tionnel
Trans-E-Viniférine
Concentration (unité arbitraire)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Procédé selon l'invention
Procédé conven-tionnel
Trans-Vitisine
Concentration (unité arbitraire)
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Procédé selon l'invention
Procédé conven-tionnel

Fig .1

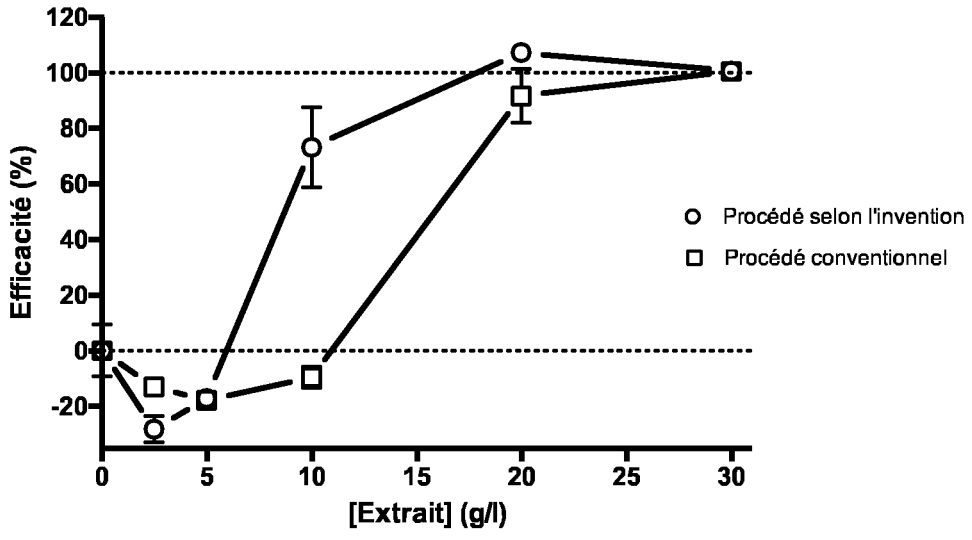
Efficacité (%)
120
100
80
60
40
20
0
-20
0
5
10
15
20
25
30
[Extrait] (g/l)
Procédé selon l'invention
Procédé conventionnel

Fig. 2

RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14, L.612-53 à 69 du code de la propriété intellectuelle

OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

L'I.N.P.I. annexe à chaque brevet un "RAPPORT DE RECHERCHE" citant les éléments de l'état de la technique qui peuvent être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention, au sens des articles L. 611-11 (nouveauté) et L. 611-14 (activité inventive) du code de la propriété intellectuelle. Ce rapport porte sur les revendications du brevet qui définissent l'objet de l'invention et délimitent l'étendue de la protection.
Après délivrance, l'I.N.P.I. peut, à la requête de toute personne intéressée, formuler un "AVIS DOCUMENTAIRE" sur la base des documents cités dans ce rapport de recherche et de tout autre document que le requérant souhaite voir prendre en considération.

CONDITIONS D'ETABLISSEMENT DU PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

[x] Le demandeur a présenté des observations en réponse au rapport de recherche préliminaire.

☐ Le demandeur a maintenu les revendications.

[x] Le demandeur a modifié les revendications.

☐ Le demandeur a modifié la description pour en éliminer les éléments qui n'étaient plus en concordance avec les nouvelles revendications.

☐ Les tiers ont présenté des observations après publication du rapport de recherche préliminaire.

☐ Un rapport de recherche préliminaire complémentaire a été établi.

DOCUMENTS CITES DANS LE PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

La répartition des documents entre les rubriques 1, 2 et 3 tient compte, le cas échéant, des revendications déposées en dernier lieu et/ou des observations présentées.

[x] Les documents énumérés à la rubrique 1 ci-après sont susceptibles d'être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention.

☐ Les documents énumérés à la rubrique 2 ci-après illustrent l'arrière-plan technologique général.

☐ Les documents énumérés à la rubrique 3 ci-après ont été cités en cours de procédure, mais leur pertinence dépend de la validité des priorités revendiquées.

☐ Aucun document n'a été cité en cours de procédure.

1. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE SUSCEPTIBLES D'ETRE PRIS EN CONSIDERATION POUR APPRECIER LA BREVETABILITE DE L'INVENTION

US 2012/021080 A1 (VENKATRAMESH MYLAVARAPU [US] ET AL) 26 janvier 2012 (2012-01-26)

US 5 989 557 A (BOMBARDELLI EZIO [IT] ET AL) 23 novembre 1999 (1999-11-23)

US 2012/142105 A1 (YOON SUNG-YONG HARRISON [US] ET AL) 7 juin 2012 (2012-06-07)

JP 2016 102192 A (SANYO CHEMICAL IND LTD) 2 juin 2016 (2016-06-02)

CN 205 759 861 U (JIANGXI FUZHIYUAN BIOTECHNOLOGY CO LTD) 7 décembre 2016 (2016-12-07)

CN 103 875 842 B (JIANGSU ANKANG BIOTECHNOLOGY DEV CO LTD) 30 mars 2016 (2016-03-30)

OSORIO E ET AL: "Biological efficiency of polyphenolic extracts from pecan nuts shell (Carya Illinoensis), pomegranate husk (Punica granatum) and creosote bush leaves (Larrea tridentata Cov.) against plant pathogenic fungi", INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS, ELSEVIER, NL, vol. 31, no. 1, 1 janvier 2010 (2010-01-01), pages 153-157, XP026777160, ISSN: 0926-6690, DOI: 10.1016/J.INDCROP.2009.09.017 [extrait le 2009-11-03]

JOSÉ M. LUQUE-RODRÍGUEZ ET AL: "Extraction of Polyphenols from Vine Shoots of Vitis vinifera by Superheated Ethanol-Water Mixtures", JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, vol. 54, no. 23, 1 novembre 2006 (2006-11-01), pages 8775-8781, XP055361569, US ISSN: 0021-8561, DOI: 10.1021/jf061855j

FAVARON, F. ET LUCCHETTA, M.: "Role of grape polyphenols on trans-resveratrol activity against Botrytis Cinerea and of fungal Lacasse on the solubility of putative grapepr proteins", JOURNAL OF PLANT PATHOLOGY, vol. 91, no. 3, novembre 2009 (2009-11), pages 579-588, XP009194007,

2. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN TECHNOLOGIQUE GENERAL

NEANT

3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND DE LA VALIDITE DES PRIORITES

NEANT