



HAL
open science

From organic synthesis to green chemistry : understanding and valorization of plant biomass

Betty Cottyn Boitte

► **To cite this version:**

Betty Cottyn Boitte. From organic synthesis to green chemistry : understanding and valorization of plant biomass. Chemical Sciences. Université paris-saclay, 2023. tel-04516932

HAL Id: tel-04516932

<https://hal.science/tel-04516932v1>

Submitted on 22 Mar 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

De la chimie organique de synthèse
à la chimie verte : Compréhension
et valorisation de biomasses
végétales

Habilitation à diriger des recherches
De l'Université Paris-Saclay

Présentée et soutenue à Versailles, le 5 juin 2023 par

Betty COTTYN-BOITTE

Composition du jury

Micheline DRAYE

Professeur de l'université Savoie Mont Blanc, EDYTEM, UMR CNRS 5204

Rapporteure

François JEROME

Directeur de recherche, IC2MP, UMR CNRS 7285

Rapporteur

Gabriel PAES

Directeur de recherche, FARE, INRAE

Rapporteur

Damien PRIM

Professeur de l'université Paris-Saclay, ILV, UMR CNRS 8180

Examineur

Samantha VERNETTES

Directrice de recherche, IJPB, INRAE

Examinatrice

Richard SIBOUT

Chargé de recherche, BIA, INRAE

Examineur

Remerciements

Ce manuscrit d'HDR décrit mon parcours dans différents laboratoires d'abord à l'Institut Lavoisier de Versailles, puis à Newcastle et maintenant ici à l'INRAE à Versailles.

Tout d'abord je tiens à remercier Micheline Draye, François Jérôme, Gabriel Paës, Damien Prim, Samantha Vernetthes et Richard Sibout d'avoir accepté de faire partie de mon jury d'HDR.

Mes premiers remerciements vont aux personnes qui m'ont orientée vers ce métier de chercheur et qui m'ont beaucoup appris au fil des années, en particulier les chercheurs et enseignants-chercheurs de l'Institut Lavoisier de Versailles à qui je dois beaucoup, dont Manu et son équipe, toujours là pour moi quand j'en ai eu besoin. J'ai aussi ici une pensée toute particulière pour François Couty, qui nous a quitté bien trop tôt, ce mémoire lui est dédié.

Je ne citerai pas de noms de peur d'en oublier mais je souhaite remercier tous les chercheurs que j'ai côtoyés et qui ont contribué aux différents projets sur lesquels j'ai pu travailler ainsi que tous les collègues et amis que j'ai pu rencontrer, qui n'ont pas forcément contribué directement aux projets scientifiques mais qui ont permis qu'ils aboutissent. Merci à Martine, Sébastien, Loïc, Sam d'avoir pris le temps de relire ce manuscrit.

Je souhaite remercier les étudiants et doctorants que j'ai encadrés, qui m'ont chacun à leur manière apporté un souffle nouveau et ont permis la progression des projets.

Je tiens à remercier également l'équipe APSYNTH car tous mes travaux sont le fruit d'un travail collectif !!! Tout d'abord je voudrai remercier Stéphanie Baumberger qui m'a permis de m'affirmer et de me faire un réseau en m'ouvrant le sien, en me faisant participer à ses projets. Un énorme merci à Catherine Lapiere qui a toujours pris le temps de me transmettre sa connaissance sur les lignines. Merci également à Paul-Henri Ducrot, qui m'a accueillie dans son équipe lors de mon recrutement. Merci à Florian Pion. Nous avons une vision des choses parfois bien différente mais finalement très complémentaire, nos discussions me permettent de prendre du recul sur mes projets. Je voudrai aussi remercier particulièrement Amel Majira, Laurent Cézard et Stéphanie Boutet. Nous avons la chance d'avoir à INRAE votre support technique et sans vous, notre travail n'avancerait pas et l'ambiance ne serait pas la même.

J'ai la chance d'avoir un super environnement de travail à l'IJPB où on se sent très bien. Merci au collectif IJPB et à l'équipe administrative qui permet la bonne réussite de nos projets.

Je remercie enfin et surtout Nicolas, que j'ai eu la chance de rencontrer à INRAE, qui supporte mes moments de doutes sur le métier, qui ne cesse d'entendre parler des lignines ☺, et qui m'apporte le meilleur soutien qu'on puisse espérer.

Table des matières

1	Parcours et références.....	7
1.1	Etat Civil.....	7
1.2	Diplômes et Parcours professionnel	7
1.3	Expériences de recherche pré-INRAE.....	7
1.4	Formations complémentaires	8
1.5	Activités liées à l’enseignement et la formation	8
1.6	Activités liées à la recherche	9
1.6.1	Administration liée à la recherche	9
1.6.2	Participation à des comités de thèse	9
1.6.3	Participation à des comités scientifiques	9
1.7	Activités destinées à un large public	10
2	Liste des publications	11
2.1	Articles et revues scientifiques.....	11
2.2	Chapitre d’ouvrage et rapports diplômants.....	12
2.3	Communications orales à des congrès et des colloques.....	13
2.4	Communications par affiche	14
3	Participation, conception et coordination des activités de recherche.....	16
4	Encadrement	19
4.1	Encadrement de stagiaires	19
4.2	Co-encadrement de doctorants	20
4.3	Autres types d’encadrement.....	21
5	Activités scientifiques	22
5.1	Travaux de recherche antérieurs à INRAE.....	22
5.1.1	Projets avant la thèse	22
5.1.2	Thèse	24
5.1.3	Post-doctorat.....	25
5.2	Travaux de recherches à INRAE en qualité de chargé de recherche.....	26
5.2.1	Présentation de l’équipe APSYNTH	26
5.2.2	Définitions des lignines et des questions de recherches INRAE.....	27
5.2.3	Axe 1 : Etude de la lignification et des mécanismes d’oxydation des phénols	30
5.2.4	Axe 2 : Synthèses de composés phénoliques modèles	33
5.2.5	Axe 3 : Valorisation des lignines dans des milieux innovants	34
5.2.6	Axe 4 : Analyses structurales des lignines	37
5.2.7	Projets complémentaires réalisés à l’IJPB	38

5.2.8	Bilan des projets INRAE depuis le recrutement	41
5.3	Perspectives, projets de recherche INRAE	43
5.3.1	Futurs projets de recherches, questions scientifiques.....	43
5.3.2	Axe « Dépolymérisation oxydante des lignines dans des milieux innovants »	44
5.3.3	Axe « Fractionnement des lignocelluloses, bioraffinerie flexible : lignin-first »	50
5.3.4	Axe « Compréhension de la mise en place de la paroi cellulaire végétale, Synthèse d'analogues de monolignols et de sucres compatibles pour la chimie click »	55
6	Conclusions.....	61
7	Bibliographie.....	62

1 Parcours et références

1.1 Etat Civil

COTTYN BOITTE Betty, née le : 27.02.1981 à Versailles, mariée, 2 enfants. Chargée de recherches (CRCN) à l'Institut Jean-Pierre Bourgin (IJPB), INRAE centre de Versailles-Grignon, UMR 1318, Bâtiment1, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles,

☎ : 01 30 83 31 38

✉ : betty.cottyn@inrae.fr

1.2 Diplômes et Parcours professionnel

1999	Baccalauréat scientifique , option physique-chimie, section européenne. Lycée Mansart, St-Cyr-l'école. Mention assez bien.
1999-2001	Deug sciences de la Matière , option chimie. Université de Versailles Saint Quentin en Yvelines (UVSQ). Mention bien.
2001-2002	Licence de chimie , option chimie organique. UVSQ. Mention bien.
2002-2003	Maîtrise de chimie , options synthèse organique et spectrochimie organique. UVSQ. Mention très bien.
2003-2004	DEA Molécules, Matériaux, Milieux Réactifs et Interfaces . UVSQ. Mention bien.
2004-2007	Doctorat de chimie . Institut Lavoisier de Versailles. Université de Versailles (9 novembre 2007).
2007-2009	Associée de recherche . Northern Institute of Cancer Research. Newcastle upon Tyne.
2009-2015	Chargé de recherche (CR2) . INRA de Versailles-Grignon. Versailles.
2016-Présent	Chargé de recherche (CR1/ CRCN) . INRAE Versailles-Grignon. Versailles.

1.3 Expériences de recherche pré-INRAE

Juillet 2002	Stage volontaire licence : synthèse et détermination structurale de molécules organiques de type benzofuroxanes et benzofurazanes : synthèse d'hétérocycles aromatiques énergétiques et analyses physico-chimiques. Laboratoire SIRCOB, CNRS UMR 8080, UVSQ ; Pr. R. Goumont.
Mai-juin 2003	Stage master : synthèse de substances naturelles : synthèses multi-étapes de polyphénols. Laboratoire : INRA de Versailles, unité de phytopharmacie ; Dr. P.H. Ducrot.
2004-2007	Thèse : synthèse et réactivité de dérivés en série indazole : synthèses organiques et organométalliques de composés aromatiques à visée thérapeutique, analyses physico-chimiques et étude de l'activité biologique des composés. Laboratoires : ILV CNRS UMR 8080, UVSQ ; Pr. F. Terrier, Dr. D. Vichard. Laboratoire de chimie et biochimie pharmacologiques et toxicologiques UMR 8601, Université René Descartes-Paris 5 ; Dr. J.L. Boucher.

2007-2009 **Post-doctorat : Associée de recherche en chimie médicinale : synthèse de 3-cyanopyridines :**
Identification de petites molécules sélectives inhibitrices des kinases MEK5 et/ou ERK5 pour le traitement du cancer de la prostate ainsi que d'autres types de tumeurs où le signal MEK5/ERK5 est dérégulé. Laboratoire: Northern Institute of Cancer Research, Newcastle; Dr. I. Hardcastle, Pr. R. J. Griffin.

1.4 Formations complémentaires

Approfondissements techniques

- ✓ 2011 Formation maître d'apprentissage (28 H).
- ✓ 2014 Formation CEPIA travailler ensemble dans un projet de recherche (21H).
- ✓ 2015 Formation CEPIA créativité et innovation (7H).
- ✓ 2015 Formation rédaction d'articles scientifiques en anglais (28H).
- ✓ 2015 Formation LC-MS QTOF Impact 2 Bruker (28H).
- ✓ 2017 Formation Excel Macro, formation Excel Macro VBA (14H).
- ✓ 2020 Formation GCMS Agilent (21H).

Hygiène et Sécurité

- ✓ 2009 Formation Sauveteur Secouriste du Travail, recyclage SST tous les 2 ans (63H).
- ✓ 2010 Formation manipulation d'extincteurs (3H).
- ✓ 2010 Formation Agent Chargé de Prévention (28H).
- ✓ 2012 Formation pour l'utilisation du nouvel outil informatique OPPI (outil de pilotage de la prévention à l'INRA) (3H).

1.5 Activités liées à l'enseignement et la formation

- ✓ Monitorat : Encadrement de travaux pratiques en premier et deuxième cycles, portant sur : Atomes et Molécules, Mécanismes réactionnels en chimie organique, Bases de la chimie organique et inorganique, Fonctions en chimie organique, Projet bibliographique et expérimental personnalisé, Formation pratique. 96 heures/an de monitorat (3 ans, de 2004 à 2007).
- ✓ Participation à l'encadrement d'étudiants en deuxième et troisième années de AgroParisTech, cursus ingénieur BIOTECH « biomolécules, biomatériaux, bioénergie », TP valorisation microalgues et TP valorisation des co-produits du café pour des applications cosmétiques, participation au projet ingénieur. 3 semaines/an (en 2018 et 2019).
- ✓ Participation au projet PACTE (Projet Artistique et Culturel en Territoire Éducatif), année scolaire 2019-2020 « Peinture et botanique, renaissance d'un jardin Antique », coordonné par M. Froissard. C'est un projet qui a un triple objectif artistique, scientifique et patrimonial et qui fait intervenir des professeurs d'histoire, de SVT, d'arts plastiques ainsi que des chercheurs INRAE. Travail collectif et contextuel pour implanter des végétaux cultivés à l'Antiquité et apprendre à transposer des techniques anciennes dans la mise en oeuvre d'une peinture murale naturelle à grande échelle. Il s'agissait d'accompagner 50 collégiens du collège Jean Bullant de Ecoen (95) dans les différentes étapes du projet allant de la composition des fresques jusqu'à la réalisation en passant par la fabrication des pigments, cette dernière étape prise en charge à l'INRAE (explication des démarches d'investigation scientifiques, notamment expérimentales pour l'extraction des "pigments naturels", l'étude de leur stabilité, leur liaison avec des huiles naturelles). Suivi et accompagnement tout au long du projet, accueil des collégiens sur le site INRAE pendant une journée. Le projet reprendra en 2023.

- ✓ Contribution à la formation continue des scientifiques ou techniciens : participation à l'université d'été ZELCOR à Wageningen, Pays-Bas en septembre 2018, avec un cours de 1 heure sur les liquides ioniques et la chimie verte « Technical and green potential of ionic liquids ».

1.6 Activités liées à la recherche

1.6.1 Administration liée à la recherche

- ✓ *2010-2019* : Dans le cadre de la démarche AQR (Assurance Qualité Recherche) du laboratoire j'étais responsable de la sélection et de la gestion des stocks de verrerie, produits chimiques, solvants pour mon équipe.
- ✓ *2010- Présent* : Dans le cadre de mes activités, j'attache beaucoup d'importance à la prévention au laboratoire. Je suis Agent de prévention depuis mon arrivée et responsable de la gestion des déchets chimiques. J'ai obtenu mon certificat de sauveteur secouriste du travail.
- ✓ *2014-2018* : Représentante française du comité de gestion de l'Action COST FP1306 "Valorization of lignocellulosic biomass side streams for sustainable production of chemicals, materials and fuels using low environmental impact technologies" (réseau européen).
- ✓ *2016-Présent* : Membre élue du Conseil de Service de l'IJPB. Organisation des réunions préparatoires au CS et des réunions du CS, rédaction de comptes-rendus.
- ✓ *2018- 2022* : Membre du comité des utilisateurs de l'Observatoire du Végétal chimie-métabolisme de l'unité (IJPB).
- ✓ *2018-Présent* : Représentante française du comité de gestion de l'Action COST CA17128 LignoCOST "Establishment of a pan-european network on the sustainable valorization of lignin" pour une durée de 4 ans (réseau européen).

1.6.2 Participation à des comités de thèse

- ✓ *2014-2015* : Membre du comité de thèse de Abdus Samad Jaufurally (doctorant Chaire Agro Biotechnologies Industrielles, AgroParisTech) : « oxidative enzymatic polymerization of phenolic compounds from lignocellulosic biomass in ionic liquids ».
- ✓ *2018* : Membre du comité de thèse de Marina Thierry (doctorante Institut Lavoisier de Versailles, Université Paris-Saclay), Thèse CIFRE IFF : « New sustainable anti-oxydants to replace BHT-Synthetic process based on green chemistry ».

1.6.3 Participation à des comités scientifiques

- ✓ *Février 2015* : Membre du comité scientifique du premier meeting de l'Action COST FP1306 (Lignoal), évaluation et sélection des abstracts.
- ✓ *Mai 2022* : Membre du comité scientifique des Journées du Réseau Français des Parois (jRFP), évaluation des abstracts.

1.7 Activités destinées à un large public

- ✓ 2006 et 2007 : Participation aux fêtes de la science, avec l'Association des Étudiants Chimistes (AEC, Université de Versailles), mise au point d'expériences simples pour découvrir la chimie avec des ateliers interactifs de 10 min (le slime, le volcan chimique, l'horloge chimique, distillation d'huiles essentielles, principe de la chromatographie, la police scientifique...).
- ✓ 2014 : Participation aux fêtes de la science, avec Saclay Plant Sciences (SPS), au Moulon, sur le thème de la cristallographie en collaboration avec P. Briozzo : Vulgarisation scientifique au moyen d'expériences ludiques allant de la cristallisation de petites molécules chimiques jusqu'à l'observation de cristaux protéiques et de structures tridimensionnelles d'enzymes.
- ✓ 2020 et 2021 : Préparation des fêtes de la science en ligne avec Ile-de-Science. Création de fiches techniques pédagogiques adaptables à différents publics avec M. Bonnet, étudiant du master « Événementiel, Médiation des Arts et des Sciences » de l'université Paris-Saclay. Les fiches portent entre autres sur l'extraction de l'amidon, l'extraction de pigments végétaux, la création de bioplastiques, les oléagineux, la chromatographie.
- ✓ 2022 : Participation à l'organisation de l'exposition itinérante "PerceptionS de la Recherche", coordonnée par M. Froissard, avec la Diagonale Paris-Saclay, en partenariat avec la Commanderie d'Elancourt, communauté d'agglomération de Saint Quentin en Yvelines et Le Master 1 "Chimie et science du vivant", parcours « Formulation, Evaluation Sensorielle et Analyse des industries de la Parfumerie, de la Cosmétique et de l'Aromatique alimentaire » (FESAPCA) de l'École Supérieure du Parfum/ l'Université de Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines. Il s'agit d'une exposition photo avec sons et parfums, pour permettre de découvrir autrement, au travers d'ambiances, le monde de la recherche ; la vie quotidienne de notre lieu d'expérimentation et de production de la connaissance est restituée au moyen de la perception sensorielle et de l'art.

2 Liste des publications

2.1 Articles et revues scientifiques

(* désigne le correspondant author ; la couleur verte représente les étudiants encadrés niveaux Master 2 et thèse) :

1. **Cottyn, B.**; Vichard, D.*; Terrier, F.; Nioche, P.; Raman, C.S. Efficient synthesis of 7 or 3,7-Disubstituted-1H-Indazoles, *Synlett* **2007**, *08*, 1203.
2. **Cottyn, B.**; Acher, F.; Ramassamy, B.; Alvey, L.; Lepoivre, M.; Frapart, Y.; Stuehr, D.; Mansuy, D.; Boucher, J.L.; Vichard, D.* Inhibitory effects of a series of 7-substituted-indazoles toward nitric oxide synthases: Particular potency of 1H-indazole-7-carbonitrile, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2008**, *16*, 5962-5973.
3. **Cottyn, B.**; Starosotnikov, A.; Vichard, D.; Goumont, R.; Shevelev, S.*; Terrier, F.* The versatile electrophilic reactivity of 4,6-Dinitrobenzo(d)isoxazole-3-carbonitrile, *Organic and Biomolecular Chemistry* **2009**, *7*, 1137-1146.
4. **Cottyn, B.**; Kollmann, A.; Waffo-Teguo, P.; Ducrot, P.-H.* Rationalization and In Vitro Modeling of the Chemical Mechanisms of the Enzymatic Oxidation of Phenolic Compounds in Planta; from Flavonols and Stilbenoids to Lignins, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 7282-7287.
5. **Cottyn, B.***; Rivard, M.; Majira, A.; Beauhaire, J.; Allais, F.; Martens, T.; Baumberger, S.; Ducrot, P.-H. Comparative electrochemical study on monolignols and dimers relevant for the comprehension of the lignification process, *Phytochem. Letters* **2015**, *13*, 280-285.
6. **Myers, S.M.**; **Bawn, R.H.**; Bisset, L.C.; Blackburn, T.J.; **Cottyn, B.**; Molyneux, L.; Wong, A.C.; Cano, C.; Clegg, W.; Harrington, R.W.; Leung, H.; Rigoreau, L.; Vidot, S.; Golding, B.T.; Griffin, R.J.; Hammonds, T.; Newell, D.; Hardcastle, I.R.* High-Throughput Screening and Hit Validation of Extracellular-Related Kinase 5 (ERK5) Inhibitors, *ACS Combinatorial Science* **2016**, *18*, 8, 444-455.
7. **Thierry, M.**; Majira, A.; Pégot, B.; Cezard, L.; Bourdreux, F.; Clément, G.; Perreau, F.; Boutet-Mercey, S.; Diter, P.; Vo-Thanh, G.; Lapierre, C.; Ducrot, P.H.; Magnier, E.; Baumberger, S.; **Cottyn, B.*** Imidazolium-Based Ionic Liquids as Efficient Reagents for the C-O Bond Cleavage of Lignin, *ChemSusChem* **2018**, *11*, 439-448.
8. Havé, M.; Balliau, T.; **Cottyn B.**; Déron, E.; Cuffe, G.; Soulay, F.; Lornac, A.; Reichman, P.; Dissmeyer, N.; Avicé, J.C.; Gallois, P.; Rajjou, L.; Zivy, M.; Masclaux-Daubresse, C.* Increases in activity of proteasome and papain-like cysteine protease in Arabidopsis autophagy mutants: back-up compensatory effect or cell-death promoting effect? *Journal of Experimental Botany* **2018**, *69*, 6, 1369-1385.
9. Rashid G.M.M.; Zhang X.; Wilkinson R.C.; Fülöp V.; **Cottyn B.**; Baumberger S.; Bugg T.D.H.* Sphingobacterium sp. T2 Manganese Superoxide Dismutase Catalyzes the Oxidative Demethylation of Polymeric Lignin via Generation of Hydroxyl Radical. *ACS Chem. Biol.* **2018**, *13*, 2920-2929.
10. Hochegger, M.; **Cottyn, B.**; Cézard, L.; Schober, S.; Mittelbach, M.* Influence of ethanol organosolv pulping conditions on physicochemical lignin properties of European larch. *Int. J. Chem. Eng.* **2019**, Article ID 1734507, <https://doi.org/10.1155/2019/1734507>.
11. Majira, A.; Godon, B.; Foulon, L.; van der Putten, J.C.; Cézard, L.; **Thierry, M.**; Pion, F.; Bado-Nilles, A.; Pandard, P.; Jayabalan, T.; Aguié-Béghin, V.; Ducrot, P.H.; Lapierre, C.; Marlair, G.; Gosselink, R.J.A.; Baumberger, S.*; **Cottyn, B.*** Enhancing the antioxidant activity of technical lignins by combining solvent fractionation and ionic liquid treatment. *ChemSusChem* **2019**, *12*, 1-13 (+couverture du journal).

12. Hochegger, M.; Trimmel, G.; **Cottyn, B.**; Cézard, L.; Majira, A.; Schober, S.; Mittelbach, M.* Influence of Base Catalyzed Organosolv Fractionation of Larch wood Sawdust on Fraction Yields and Lignin Properties. *Catalysts* **2019**, *9*, 12, 996.
13. **Martinetto, Y.**; Pégot, B., Roch-Marchal, C.; **Cottyn, B.**; Floquet, S.* Designing Functional Polyoxometalate-based ionic liquid crystals and ionic liquids. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2020**, 228-247 (revue).
14. **Gerbin, E.**; Frapart, Y.-M.; Marcuello, C.; **Cottyn, B.**; Foulon, L.; Pernes, M.; Crônier, D.; Molinari, M.; Chabbert, B.; Ducrot, P.H.; Baumberger, S.; Aguié-Béghin, V.*; Kurek, B. Dual antioxidant properties and organic radical stabilization in cellulose nanocomposite films functionalized by in situ polymerization of coniferyl alcohol. *Biomacromolecules* **2020**, *21*, 3163-3175.
15. **Holt, C.**; **Cottyn, B.**; Baumberger, S.; Kovacs-Schreiner, K.; Blacker A.J.* High throughput analysis of lignin by agarose gel electrophoresis, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2020**, *68*, 14297–14306.
16. **Martinetto, Y.**; Basset, S.; Pégot, B.; Roch-Marchal, C.; Camerel, F.; Jetic, J.; **Cottyn-Boitte, B.**; Magnier, E.; Floquet, S.* Synthesis, Physical Properties and Application of a Series of New Polyoxometalate-Based Ionic Liquids, *Molecules* **2021**, *26*, 496.
17. Daou, M.; Correia, L.; Majira, A.; Cézard, L.; **Cottyn, B.**, Pion, F.; Navarro, D.; Drula, E.; Record, E.; Raouche, S.; Baumberger, S.; Faulds, C.* Fungal Treatment for the Valorization of Technical Soda Lignin, *Fungi* **2021**, *7*, 39-60.
18. **Gerbin, E.**; Rivière G.N.; Foulon, L. Frapart, Y.-M.; **Cottyn, B.**; Pernes, M.; Marcuello, C.; Godon, B.; Gainvors-Claissé, A.; Crônier, D.; Majira, A.; Osterberg, M.; Kurek, B.; Baumberger, S.; Aguié-Béghin, V.*; Tuning the functional properties of lignocellulosic films by controlling the molecular and supramolecular structure of lignin, *International journal of Biological Macromolecules* **2021**, *181*, 136-149.
19. **Martinetto, Y.**; Pégot, B.; Roch-Marchal, C.; Haouas, M.; **Cottyn-Boitte, B.**; Camerel, F.; Jetic, J.; Morineau, D.; Magnier, E.; Floquet, S.* A decatungstate-based ionic liquid exhibiting very low dielectric constant suitable for acting as solvent and catalyst for oxidation of organic substrates, *New J. Chem.* **2021**, *45*, 9751-9755.
20. Garajova, S.*; Patel, I.; Lomascolo, A.; Legée, F.; Cézard, L.; **Cottyn, B.**; Lecourt, M.; Bertrand, E.; Sciara, G.; Tapin-Lingua, S.; Baumberger, S.; Faulds, C.B.; Record, E. Treatment of wood fibres with laccases: improved hardboard properties through phenolic oligomerization, *European Journal of Wood and Wood Products* **2021**, *79*, 1369-1382.
21. Daou, M. ; Bisotto, A. ; Haon, M. ; Oliveira-Correia, L. ; **Cottyn, B.** ; Drula, E. ; Garajova, S. ; Bertrand, E. ; Record, E. ; Navarro, D. ; Raouche, S. ; Baumberger, S. ; Faulds, C.B.* , A Putative Lignin Copper Oxidase from *Trichoderma reesei*, *Journal of Fungi* **2021**, *7*, 643.

2.2 Chapitre d'ouvrage et rapports diplômants

Thèse de doctorat de l'Université de Versailles Saint Quentin, école doctorale « Matière, milieux réactifs et méthodes de la modélisation » M2MR2 :

« Etude multifacette en série indazole : fonctionnalisation de l'indazole en position 7 et 3,7 et application à l'inhibition des NO-Synthases, Synthèse et réactivité d'indazoles polynitrés. »

Soutenue le 9 Novembre 2007 devant un jury composé de : J.L. Montero, J. Uziel, F. Couty, J.L. Boucher, D. Vichard, F. Terrier (directeur).

2.3 Communications orales à des congrès et des colloques

(Le présentateur est souligné ; les étudiants encadrés sont représentés en vert) :

1. Journées de la catalyse – Mai **2010**, Saclay : Cottyn B., Ducrot P.H. *One electron vs two electrons transfer during chemical and enzymatic oxidation of phenolics ; impact on lignification.*
2. Séminaire ECHO – Octobre **2014**, Institut Lavoisier de Versailles : Cottyn B. *Biocatalyse des lignines pour une meilleure valorisation de la biomasse végétale.*
3. FP 1306 COST Action (Lignoal) – Second MC meeting and first workshop – Février **2015**, Belgrade, Serbie: Cottyn B., Majira A., Pegot B., Maia-Grondard A., Ducrot P.H., Magnier E., Baumberger S. *Effects of ionic liquid and microwave irradiation on lignin depolymerization.*
4. FP1306 COST Action (Lignoal) – Fifth MC meeting and fourth workshop – Mars **2018**, Thessaloniki, Grèce: **Thierry M.**, Majira A., Pégot B., Cézard L., Bourdreux F., Clément G., Perreau F., Boutet-Mercey S., Diter P., Vo-Thanh G., Lapiere C., Ducrot P.H., Magnier E., Baumberger S., Cottyn B., *Production of lignin-derived phenolics through ionic liquids-based treatments.*
5. ZELCOR (Zero Waste Ligno-Cellulosic Bio-refineries) Summer School – Septembre **2018**, Wageningen, Pays-Bas: Cottyn B., Marlair G. *Technical and green potential of ionic liquids.*
6. Exploring Lignocellulosic biomass- June **2018**, Reims: **Gerbin E.**, Cronier D., Cottyn B., Ducrot P.H., Frapart Y.M., Baumberger S., Kurek B., Aguié-Béghin V. *Lignin cross-linking in cellulose nanocrystal based films by Fenton reaction: mechanism and properties.*
7. Lignobiotech 2018- Aout **2018**, Helsinki, Finlande: **Gerbin E.**, Bertrand E., Cronier D., Cottyn B., Ducrot P.H., Frapart Y.M., Baumberger S., Kurek B., Aguié-Béghin V. *Lignin cross-linking on cellulose nanocrystal based films by hydroxyl radicals.*
8. J3P- Octobre **2018**, Nancy : Marlair G., Pandard P., Bado-Nilles A., Cottyn B. *Liquides ioniques : les bons questionnements pour leur sécurité d'usage.*
9. ISGC (International Symposium on Green Chemistry) - Mai **2019**, La Rochelle : Cottyn B., **Thierry M.**, Majira A., Pion F., Baumberger S., Aguié-Béghin V., Gosselink R.J.A., Marlair, G., Bado-Nilles, A., Pandard P. *Technical grass lignins engineering with ionic liquids as a method for improving antioxidant activity.*
10. Journée de l'Ecole Doctorale Molécules, Matériaux, Instrumentation et Biosystèmes (2MIB) - Juin **2019**, Evry: **Martinetto Y.**, Pegot B., Roch C., Cottyn B., Haouas M., Camerel F., Morineau D., Floquet. S. *Application of a new polyoxometalate-based ionic liquids in "green" catalytic oxidation.*
11. Commission Biomolécules, pôle IAR - Mars **2020**, Paris : Floquet S., **Martinetto Y.**, Cottyn B. *L'utilisation des Liquides Ioniques à Base de Polyoxométallates pour la dépolymérisation de la biomasse.*
12. ACS Spring 2021 online **2021**: Aguié-Béghin V., **Gerbin E.**, Rivière G., Frapart Y.M., Cottyn B., Gainvors-Claisse A., Chabbert B., Österberg M., Baumberger S., Kurek B. *Cellulose-lignin-based films: tuning functional properties through molecular and supramolecular structures of lignins.*
13. Journée scientifique Chimie-Environnement de la Graduate School de Chimie Paris-Saclay, Novembre **2022**, Orsay : **Zeaiter N.**, Cottyn-Boitte B., Roch-Marchal C., Haouas M., Pégot B., Floquet S., *Valorization of biomass residues by oxidative depolymerization using ionic liquids based on polyoxometalate anions.*
14. Journée scientifique Chimie-Environnement de la Graduate School de Chimie Paris-Saclay, Novembre **2022**, Orsay: Cottyn-Boitte B. *L'institut Jean-Pierre Bourgin, De la connaissance à l'innovation en sciences du végétal.*

15. Journée scientifique du Labex Charmmmat, Décembre **2022**, ENS Paris Saclay: [Zeaiter N.](#), [Cottyn-Boitte B.](#), Roch-Marchal C., Haouas M., Pégot B., Floquet S. *Valorization of biomass residues by oxidative depolymerization using ionic liquids based on polyoxometalate anions.*

2.4 Communications par affiche

1. Lignobiotech One Symposium 2010- Mars **2010**, Reims: [Cottyn B.](#), Ghidouche S., Kollmann A., Méchin V., Baumberger, S., Allais F., Ducrot P.-H. One electron vs two electrons transfer during chemical and enzymatic oxidation of phenolics; impact on lignification.
2. Journées de Chimie Organique 2010- Septembre 2010, Palaiseau: [Cottyn B.](#), Ghidouche S., Kollmann A., Allais F., Ducrot P.-H. One electron vs two electrons transfer during chemical and enzymatic oxidation of phenolics; impact on lignification.
3. Soutenance de stage d'Amandine Flourat- Juin 2010, Université Paris 6: [Flourat F.](#), [Cottyn B.](#), Ducrot P.-H. biocatalyse des lignines de graminées.
4. Soutenance de stage d'Abdus Samad Jaufurally- Juin 2011, Université Paris 6: [Jaufurally A.S.](#), [Cottyn B.](#) Influence des laccases sur la synthèse des lignines.
5. Réseau Français des Parois 2011- Juin **2011**, Lille : [Baratiny D.](#), [Cottyn B.](#), Berthet S., Jouanin L., Lapierre C., Ducrot P.-H., Demont-Caulet N. Spécificité des laccases végétales dans la polymérisation in vivo et in vitro des monolignols.
6. Journées d'électrochimie 2011- Juillet **2011**, Grenoble : [Cottyn B.](#), Rivard M., Martens T., Ducrot P.-H. L'électrochimie : un outil pour la compréhension des mécanismes d'oxydation intervenant lors de la lignification.
7. 242 ACS National Meeting 2011- Août **2011**, Denver: [Baratiny D.](#), [Cottyn B.](#), Berthet S., Jouanin L., [Lapierre C.](#), Ducrot P.-H., Demont-Caulet N., Allais F. New insights in the mechanism of the enzymatic formation of lignin dehydrogenative polymers (DHP).
8. 243 ACS National Meeting 2012-Mars **2012**, San Diego: [Myers S.M.](#), [Bawn R.H.](#), [Cottyn B.](#), Golding B.T., Griffin R.J., Hammonds T., Leung H., Newell D., Rigoreau L., Wong A.C., Hardcastle I.R., Cano C. Hit validation of ERK5 inhibitors: expectations and challenges.
9. RSC Bio-Organic Group Postgraduate Symposium-April **2013**, Manchester: [Myers S.M.](#), Barrett L., [Bawn R.H.](#), [Cottyn B.](#), Golding B.T., Griffin R.J., Hammonds T., Leung H., Martin N., Newell D., Rigoreau L., Wong A.C., Hardcastle I.R., Cano C. Hit validation of ERK5 inhibitors: expectations and challenges.
10. Lignin 2014-Biosynthesis and utilization- Août **2014**, Umea: [Cottyn B.](#), [Baratiny D.](#), Majira A., Boutet-Mercey S., [Lapierre C.](#), Jouanin L., Demont-Caulet N., Ducrot P.H. *Mechanistic insights into laccases' implication in in vitro lignin formation.*
11. Journée technique du scale-up: du rêve à la réalité industrielle- Novembre **2017**, Romainville: [Marlair G.](#), Jayabalan T., Pandard P., Bado-Nilles A., Adam K., [Cottyn B.](#), Baumberger S. *Towards Sustainable use of ionic liquids from a safety viewpoint: From research results to applications in the domain of biorefining.*
12. EWLB 2018- Juin **2018**, Aveiro: [Pion F.](#), [Cottyn B.](#), Jongerius A., Rashid G., Bugg T.D.H., Gosselink R., Berezina N., Jusselme M., Miambi E., Faulds C., Aguié-Béghin V., Kurek B., Rivière G., Österberg M., Apone F., Marlair G., Baumberger S. *Strategies for the valorization of lignocellulosic biorefineries side-streams: example of Zelcor concept.*
13. EWLB 2018- Juin **2018**, Aveiro: Garajová S., Patel I., Lomascolo A., Legée F., Cézard L., [Cottyn B.](#), Lecourt M., Tapin-Lingua S., Faulds C., Record E., [Pion F.](#), Baumberger S., *Laccase-mediated oligomerization of phenolic extractives: a key mechanism governing the performance of fiberboards.*
14. Journée école doctorale- Septembre **2018**, Versailles: [Martinetto Y.](#), Floquet S., Pégot B., Roch C., [Cottyn B.](#) *Synthesis, characterization and applications of Polyoxometalate-based Ionic Liquids.*

15. Journée catalyse hétérogène en milieu complexe CEPIA- Septembre **2018**, Paris : **Cottyn B.**, **Guisnet C.**, Majira A., Pion F., Ducrot P.H., Baumberger S. *Synthèse de modèles de lignines par biocatalyse dans les liquides ioniques pour la valorisation des lignines.*
16. Colloque Chimie Durable- Avril **2019**, Lyon : **Martinetto Y.**, Basset S., Pegot B., Roch C., **Cottyn B.**, Haouas M., Morineau D., Camarel F., Floquet S. *Synthesis, characterization and applications of Polyoxometalate-based Ionic Liquids.*
17. ISGC (International Symposium on Green Chemistry) 2019- Mai **2019**, La Rochelle: **Martinetto Y.**, Pegot B., Floquet S., Roch C., Haouas M., **Cottyn B.**, Camarel F., Jestic J. *Synthesis, characterization and applications of Polyoxometalate-based Ionic Liquids.*
18. ISGC (International Symposium on Green Chemistry) 2019- Mai **2019**, La Rochelle: Garajova S., Patel I., Lomascolo A., Légée F., **Cottyn B.**, Lecourt M., Tapin-Ligua S., Baumberger S., Faulds C., Record E. *Oligomerization of phenolic extractives upon wood fibers treatment with laccase systems: contribution to fiberboards properties improvement.*
19. Journées de Chimie Organique 2019 - Octobre 2019, Gif sur Yvette: **Martinetto Y.**, Pégot B., Roch C., Cottyn B., Haouas M., Camarel F., Morineau D., Floquet S. *Application of a new polyoxometalate-based ionic liquid in "green" catalytic oxidation".*
20. 8ème Journée Scientifique du LabEx Charmmmat - Novembre **2021**, ENS Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette: **Martinetto Y.**, **Zeaiter N.**, Camarel F., Briois V., Haouas M., Roch-Marchal C., Pégot B., **Cottyn-Boitte B.**, Floquet S. *Valuation of biomass residues by oxidative depolymerization using ionic liquids based on polyoxometalate anions.*

3 Participation, conception et coordination des activités de recherche

Acronyme	Année soumission	Appel d'offre	Budget (k€)	Mon rôle (Porteur/ Contributeur)	Déposé/ Obtenu
ASTRALI <i>Analyse Stratégique sur les Liquides Ioniques : de leur conception à leurs applications dans un contexte de développement durable et d'innovation</i>	2009	Carnot 3BCAR	32	Contributeur. Projet porté par I. Maillet (INRAE, adjointe au partenariat du département CEPIA)	Obtenu
MAGIC <i>Etude de l'organisation des lignines, du réseau polysaccharidique et des complexes lignines-polysaccharides des parois de graminées</i>	2009	ANR	290	Contributeur. Projet porté par V. Méchin (IJPB)	Obtenu
BILILI <i>Bioconversion de lignine modèle dans les liquides ioniques</i>	2013	ANS CEPIA	20	Porteur	Déposé
LIGNOXYL <i>Oxydation des lignocelluloses par les radicaux hydroxyles générés par voie chimique et enzymatique</i>	2014	Carnot 3BCAR		Contributeur. Projet porté par B. Kurek (FARE)	Obtenu
DEPOLLI <i>Etude des mécanismes de dépolymérisation chimique des lignines : application à la déméthylation des lignines dans les liquides ioniques sous activation micro-ondes</i>	2015	ANS CEPIA	20	Porteur	Déposé
CATLIGN <i>Multicatalyse Convergente : Accès à des Architectures Polycycliques à partir de Composés Modèles de la Lignine</i>	2015	ANR	172	Contributeur. Projet porté par V. Coeffard (ILV)	Déposé
INNOWALL <i>Substances naturelles ayant pour cible la sécrétion des polysaccharides pariétaux</i>	2015	ANR	454	Contributeur. Projet porté par S. Vernhettes (IJPB)	Déposé
DESIR <i>Régulation de l'acquisition du fer par des sidérophores chez les champignons et de l'activation des défenses de la plante</i>	2015	ANR	500	Contributeur. Projet porté par A. Dellagi (IJPB)	Déposé
LIGBIO <i>Production de molécules d'intérêt à partir de lignines en utilisant des microorganismes</i>	2015	Projet européen ERANET	20	Contributeur. Projet porté par S. Baumberger (IJPB).	Obtenu

LIGNOXYL 2.0 <i>Oxydation des lignocelluloses par les radicaux hydroxyles générés par voie chimique et enzymatique</i>	2016	Carnot 3BCAR	190	Contributeur. Projet porté par B. Kurek (FARE).	Obtenu
ZELCOR <i>Zero Waste Ligno-Cellulosic Biorefineries by Integrated Lignin Valorisation</i>	2016	H2020-BBI	6700	Contributeur. Projet porté par S. Baumberger (IJPB).	Obtenu
<i>Modification et caractérisation des lignines industrielles dans des milieux innovants : vers le développement de synthons et oligomères phénoliques pour la production de nouveaux matériaux biosourcés</i>	2017	Thèse ABIES	Salaire du doctorant	Porteur. Candidate Marina Thierry	Déposé
Thèse IDI <i>Développement de nouveaux Liquides Ioniques à base de Polyoxométallates pour une chimie durable</i>	2017	Ecole doctorale 2MIB Paris-Saclay	Salaire du doctorant	Contributeur. Thèse portée par S. Floquet (ILV)	Obtenu
FuncLIPRO <i>Proof of concept for the functionalization of lignins by applying laccase dehydrogenase enzymatic treatments in biobased materials applications</i>	2017 et 2018	ANR	500	Contributeur. Projet porté par E. Record (INRAE, BBF, Marseille)	Déposé
<i>Modification et caractérisation de lignines de bioraffinerie dans des milieux innovants : vers le développement de synthons et oligomères phénoliques pour de nouveaux matériaux biosourcés</i>	2018	Thèse ABIES	Salaire du doctorant	Porteur. Candidate Negissa Ebadipour	Déposé
ULTRALIGN <i>Effects of ULTRASound treatments on LIGNins</i>	2020	ANR	545	Porteur	Déposé
<i>Synthèse de molécules bio-sourcées à haute valeur ajoutée pour l'industrie</i>	2020	Projet CHARM3AT	20	Contributeur. Projet porté par S. Floquet (ILV)	Déposé
FuncLIPRO <i>Proof of concept for the functionalization of lignins by applying laccase-dehydrogenase enzymatic treatments in biobased materials applications</i>	2020	ANR	478	Contributeur. Projet porté par E. Record (INRAE, BBF, Marseille)	Obtenu
MILIMO <i>Microbial conversion of lignin to monomers for bio-based plastics using synthetic biology</i>	2020	Projet européen ERA CobioTech	975	Contributeur. Projet porté par T. Bugg (université de Warwick, UK).	Obtenu
OPOILS <i>Oxidative catalysis of biorefinery recalcitrant lignins by POLyoxometalate-Ionic Liquids using Sonophotochemistry</i>	2021	ANR	504	Porteur	Déposé

OPOILS <i>Oxidative catalysis of biorefinery recalcitrant lignins by POlyoxometalate-Ionic Liquids using Sonophotochemistry</i>	2022	ANR	520	Porteur	Déposé
FUNCICAFE <i>Functional modification of spent coffee grounds through chemical fractionation and fungal treatment</i>	2022	AIC TRANSFORM	20	Contributeur. Projet porté par C. Faulds (INRAE, BBF, Marseille)	Déposé
Opex Livi <i>Optimisation de procédés d'extraction de lignines : vers de nouveaux vitrimères polyimines biosourcés</i>	2023	Carnot 3BCAR	100	Contributeur Projet porté par F. Pion (INRAE, IJPB)	Déposé
PHOTO-POM <i>Photocatalytic activation of polyoxometalates for reactivity, valorization of biomass and depollution</i>	2023	ANR	600	Contributeur. Projet porté par S. Floquet (ILV)	Déposé (en cours)
BioMatMix <i>Biosourced materials prepared from mixtures of molecules from lignin depolymerization</i>	2023	ANR	640	Contributeur. Projet porté par V. Terrasson (ESCOM)	Déposé (en cours)

4 Encadrement

4.1 Encadrement de stagiaires

BAC+2, BAC+3

- ✓ 2011 : **Anne-Julie Jouvenet**, deuxième année de DUT de l'IUT d'Orsay, Sujet : Valorisation des lignines (encadrante).
- ✓ 2011-2012 : **Enora Poquet**, apprentie Licence professionnelle industries chimiques et pharmaceutiques de l'IUT d'Orsay (option chimie organique et bio-organique : de la conception à la valorisation), Sujet : La fonctionnalisation des lignines au moyen de traitements 'verts' (maître d'apprentissage).
- ✓ 2014 : **Matthieu Pélingre**, Licence L3 Chimie Faculté des Sciences et Technologies de Nancy, Sujet : valorisation des lignines (co-encadrante).
- ✓ 2018 : **Capucine Guisnet**, deuxième année de DUT Chimie Université Paris Sud, IUT d'Orsay, Sujet : Synthèse de modèles de lignines catalysées par des enzymes sous irradiation micro-ondes dans les liquides ioniques (encadrante).
- ✓ 2021 : **Hanane El Hadjaji**, troisième année de Licence Chimie Université Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines, Sujet : stage de découverte sur les lignines : structure, production et valorisation (encadrante).

BAC+4, BAC+5

- ✓ 2010 : **Amandine Flourat**, Master 1 de l'Université Pierre et Marie Curie, Paris, Sujet : Biocatalyse des lignines (encadrante).
- ✓ 2011 : **Abdus-Samad Jaufurally**, Master 1 de l'Université Pierre et Marie Curie, Paris, Sujet : Influence des laccases sur la synthèse des lignines (encadrante).
- ✓ 2011 : **Soumiya Mikssat**, Master 2 de l'université de Marrakech (Maroc), Sujet : Modélisation de la synthèse des lignines sur phase solide (encadrante).
- ✓ 2012 : **Soumiya Mikssat**, Master 2 de l'Université de Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines, Sujet : Oxydation des phénols végétaux : étude de la sélectivité des phénols oxydases végétales et fongiques et étude du mécanisme de lignification (encadrante).
- ✓ 2012 : **Mohamad Assad**, Master 2 de l'Université de Grenoble 1, Sujet : Synthèse d'adduits lignines-tannins (co-encadrante).
- ✓ 2017 : **Marina Thierry**, Master 2 international bioraffinerie de Lille 1, Sujet : Modification of lignins in ionic liquids, (encadrante).
- ✓ 2017-2018 : **Kévin Cochet**, 2^{ème} année du cursus ingénieur (Domaine 2, Parcours « Bioraffinerie, Chimie Verte »), dispositif "La recherche et moi" d'AgroParisTech (tuteur scientifique).

- ✓ 2018 : **Yohan Kouko**, Master 2 international bioraffinerie de Lille 1, Sujet: Synthèses de dimères modèles de lignines pour la compréhension de la dépolymérisation des lignines et leur valorisation (encadrement stage bibliographique).
- ✓ 2020 : **Vitor Geniselli Da Silva**, deuxième année Biotech, AgroParis Tech, Sujet : Projet Ingénieur : Laccases and ionic liquids for lignin depolymerization in a green chemistry approach (encadrante projet ingénieur).
- ✓ 2021 : **Adithya Raveendran Thottathil**, Master 2 BIOCEB AgroParisTech, Sujet : Development of a fractionation strategy for the valorization of spent coffee grounds (co-encadrante 50%).

4.2 Co-encadrement de doctorants

Etudiant	Années	Financement	Objectifs	Valorisation	Contribution	Devenir
Stéphanie May Myers	2008-2009	Cancer Research UK, Dirigée par R. Griffin Co-encadrement 30%	Synthèse de 3-cyanopyridines : Identification de petites molécules sélectives inhibitrices de MEK5 et/ou ERK5 pour le traitement du cancer de la prostate ainsi que d'autres types de tumeurs où le signal MEK5/ERK5 est dérégulé	1 publication 3 communications	Encadrement des étudiants à la paille, au développement d'expériences et du plan de manipulation, à l'analyse et l'interprétation des résultats, à l'écriture des publications.	Lecturer, Sunderland University
Elise Gerbin	2016-2020	3Bcar LIGNOXYL 2.0 Co-dirigée par B. Kurek et S. Baumberger Co-encadrement 30%	Oxydation des lignocelluloses par les radicaux hydroxyles générés par voie chimique et enzymatiques	2 publications, 3 communications		Chargé de projet (GREENPILE à Nîmes puis ISONAT à Roanne)
Yohan Martinetto	2017-2020	Thèse IDI, Université Paris-Saclay, Dirigée par S. Floquet Co-encadrement 50%	Dépolymérisation de lignines par des liquides ioniques à base de polyoxométallates : application pour la synthèse éco-compatible de synthons et d'oligomères biosourcés à haute valeur ajoutée	3 publications (2 autres sont en préparation), 6 communications		Chargé de projet (ARISTOT) puis Chargé d'affaires et partenariat Economie Verte au CISAM (Cité de l'innovation et des savoirs à Aix-Marseille)
Nour Zeaier	2021-2024	Thèse 2MIB, Université Paris-Saclay, Dirigée par S. Floquet Co-encadrement 50%	Valuation of Biomass residues by oxidative depolymerization using ionic liquids based on polyoxometalate anions	1 publication en préparation, 3 communications		
Adithya Raveendran Thottathil	2022-2025	Thèse SPS Fellowships 2022, Université Paris-Saclay, Dirigée par S. Baumberger Co-encadrement 25%	Flexible lignin-first biorefinery: exploitation of inter- and intraspecies variability of local plant feedstocks			

4.3 Autres types d'encadrement

- ✓ 2011 : **Salem Chabout**, Stage pratique « découverte de secteur » pour une réorientation professionnelle du CRP de Beauvoir, Sujet : Synthèse des produits de départ et amorces pour la modélisation de la synthèse des lignines sur phase solide. Salem a été recruté par la suite comme technicien à INRAE dans l'équipe ACCI de l'IJPB. (Encadrement 100%).
- ✓ Chaque année depuis 2016, encadrement de **collégiens de troisième** (une dizaine chaque année répartis sur 3 semaines), vulgarisation et explication des travaux de l'équipe au moyen d'expériences pédagogiques (thèmes : polymères, bioplastiques, bioraffinerie, chimie verte, bioéconomie).
- ✓ 2022 : Participation au programme de mentorat Femmes & Sciences de l'Université Paris-Saclay, avec un objectif de conseil et de soutien de doctorantes « mentorées » dans une période charnière de construction de leur carrière. Mentorat de **Mathilde Dufouleur**, doctorante en économie au Centre d'Etude des Politiques Economiques de l'Université d'Evry.
- ✓ 2022-Présent : Membre du groupe des « Référents Thèse » pour l'IJPB. L'objectif est d'assurer un accueil de qualité des doctorants, avec la mise en place d'une écoute et de mesures dédiées à la bonne intégration et aux bonnes conditions de travail des doctorants dans l'unité.

5 Activités scientifiques

Pour retracer mon parcours très succinctement, je suis chimiste organicienne spécialisée en synthèse organique, organométallique et synthèse totale. Avant mon arrivée à INRAE, mes différentes expériences professionnelles ont porté sur la synthèse totale de molécules à visée thérapeutique (antioxydants, traitement des maladies neurodégénératives). Ces activités m'ont permis de travailler sur plusieurs familles de molécules, sur des projets à l'interface chimie-biologie, d'acquérir des compétences en synthèse organique, organométallique et enzymatique ainsi que des compétences en chimie analytique (RMN, HPLC, LC, GC, MS, HPSEC, IR, UV).

J'ai passé ma thèse le 9 novembre 2007 sur « *l'étude multifacette en série indazole : fonctionnalisation de l'indazole en positions 7 et 3,7, application à l'inhibition des NO-synthases, synthèse et réactivité d'indazoles polynitrés* » à l'Institut Lavoisier de Versailles. J'ai ensuite réalisé un stage post-doctoral, financé par Cancer research UK, en tant qu'associée de recherches en chimie médicinale au Northern Institute for Cancer Research à Newcastle, où j'ai travaillé sur l'identification et la synthèse totale de molécules sélectives inhibitrices de kinases pour le traitement du cancer de la prostate. Après ces premières expériences de recherche enrichissantes et dans le contexte émergent de la chimie verte, j'ai passé le concours de chargé de recherches pour rejoindre INRAE sur le projet : « *Biocatalyse des lignines pour une meilleure valorisation de la biomasse végétale* ». Depuis 2009, je fais donc partie de l'équipe APSYNTH « *Biopolymères lignocellulosiques : des assemblages pariétaux aux synthons pour la chimie verte* » au sein de l'Institut Jean-Pierre Bourgin.

Pour l'organisation de cette partie, j'ai choisi de présenter mes activités de recherche en suivant les grandes étapes de ma carrière : 1) Travaux antérieurs à INRAE : DEA, thèse et post-doctorat ; 2) Travaux au sein d'INRAE en qualité de chargé de recherche ; 3) Futurs projets. Dans cette dernière partie, j'ai souhaité regrouper les différentes activités de recherche par thématique plutôt que de suivre leur chronologie, dans un souci de clarté mais également pour démontrer une réelle cohérence de mes choix de carrière malgré la diversité des projets.

5.1 Travaux de recherche antérieurs à INRAE

Mes travaux de recherche m'ont amené à travailler successivement sur plusieurs projets : la synthèse et la détermination structurale de molécules organiques de type benzofuroxanes et benzofurazanes, la synthèse de polyphénols, la synthèse et la réactivité de dérivés en série indazole, et l'identification de petites molécules sélectives inhibitrices de la kinase ERK5 pour le traitement du cancer de la prostate. Chacun de ces projets sera présenté très rapidement, dans un ordre chronologique, du plus ancien au plus récent, ainsi que l'objet des recherches entreprises, leur intérêt scientifique et les résultats obtenus.

5.1.1 Projets avant la thèse

- ✓ ***Synthèse et détermination structurale de molécules organiques de type benzofuroxanes et benzofurazanes : synthèse d'hétérocycles aromatiques énergétiques et analyses physicochimiques.***

Les travaux ont reposé sur une thématique d'activation superélectrophile, pour l'essentiel sur l'exploration de la réactivité de structures polyazotées, benzofurazanes **1** et benzofuroxanes **2** (Figure 1), tout à la fois capables de se coupler avec des nucléophiles très faibles et de contribuer à des processus péricycliques très stéréosélectifs. Ces hétérocycles ont été intégrés dans l'échelle d'électrophilie universelle de Mayr, une échelle universelle basée sur la relation entre 3 paramètres, la force du nucléophile, le pouvoir de l'électrophile et la constante de vitesse bimoléculaire de couplage électrophile/nucléophile, permettant de dégager des relations structure-activité. Cette échelle constitue un outil très utile pour optimiser la faisabilité de nombreux couplages nucléophile/électrophile.

Ces composés sont connus pour leurs propriétés énergétiques (explosifs et molécules entrant dans la composition de propergols) et biologiques (activité anti cancer).

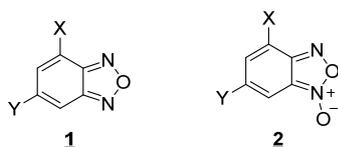


Figure 1. Structures chimiques des benzofurazanes **1** et benzofuroxanes **2**.

Le programme de travail a compris la synthèse de benzofurazanes et benzofuroxanes ($X=Y=NO_2$, CN, CF_3 , SO_2CF_3) dans un premier temps, leur caractérisation dans un second temps et enfin l'étude de leur réactivité dans les réactions de Diels-Alder dans le but de les situer sur l'échelle d'électrophilie universelle de Mayr. La synthèse organique classique a été utilisée ainsi que les outils d'analyse comme la résonance magnétique nucléaire (RMN), la spectrométrie de masse, les spectroscopies IR et UV-Visible pour la caractérisation des produits. La réaction de ces hétérocycles, en tant que diène ou hétérodiène, dans la réaction de Diels-Alder a permis de mettre en évidence une réactivité particulièrement riche. Cette réactivité particulière a été étudiée dans différents solvants. En effet, dans le cadre d'une chimie toujours plus en accord avec l'environnement, les réactions de Diels-Alder ont principalement été effectuées dans l'eau et dans les solvants ioniques. Ces réactions sont toutes diastéréosélectives et ont permis, dans certains cas, de mettre en évidence la formation de composés obtenus sous contrôle cinétique ou thermodynamique. Une étude de ces réactions de Diels-Alder a ensuite été effectuée avec des diènes asymétriques pour effectuer des réactions stéréocontrôlées.

✓ Synthèse de substances naturelles, synthèses multi-étapes de polyphénols

Les composés phénoliques, souvent appelés polyphénols, sont des métabolites secondaires végétaux offrant une grande diversité de structures, depuis des molécules simples (acides phénoliques, anthocyanes, flavonols, catéchines) jusqu'à des polymères complexes (tanins). Ils sont impliqués dans plusieurs domaines, allant des mécanismes de défense des plantes jusqu'à la qualité du vin (bouquet et couleur par exemple). Ces propriétés dépendent de la structure moléculaire mais elles sont également fortement modulées par les interactions que les composés phénoliques établissent entre eux et avec d'autres composés présents dans le fruit, la matrice alimentaire ou la salive. Les enjeux de la recherche sur les polyphénols étaient de confirmer chez l'Homme leurs effets protecteurs contre les diverses pathologies, de définir la nature des polyphénols les plus efficaces, de préciser la nature des aliments qui constituent les meilleures sources de polyphénols. Ces études avaient un double intérêt, d'une part préciser les mécanismes à l'origine des effets protecteurs des polyphénols, d'autre part utiliser les métabolites comme biomarqueurs de consommation. Les effets protecteurs des polyphénols ont été étudiés dans la protection contre les maladies cardio-vasculaires (rôle antioxydant) et l'ostéoporose. La comparaison de polyphénols purifiés et d'aliments contenant ces mêmes polyphénols permettrait de préciser la part des effets attribuables aux polyphénols, par rapport aux nutriments présents dans ces mêmes aliments. Cette recherche permettrait de valoriser au mieux le potentiel santé des aliments d'origine végétale, de prévenir par l'alimentation des principales pathologies dégénératives qui affectent la population française.

Différents travaux de recherche ont été entrepris pour permettre d'aider à la compréhension des relations entre polyphénols et qualité des aliments. Ils consistaient en la synthèse totale de procyanidines et analogues non naturels, la mise au point de nouveaux outils chimiques de caractérisation structurale des tanins condensés, l'étude de la réactivité chimique des polyphénols et la biotransformation des polyphénols par des systèmes enzymatiques. Pour comprendre et contrôler l'influence des composés phénoliques et leurs interactions sur les caractéristiques qualitatives des produits végétaux et des produits transformés, mes travaux de recherche ont consisté à étudier les voies chimiques qui concourent à la formation des catéchines et la caractérisation de la structure des produits formés. L'étude structure-activité a été effectuée en position 8 des catéchines **3** (Figure 2). La synthèse de plusieurs catéchines a été réalisée grâce à une synthèse multi étapes, permettant d'obtenir les produits voulus ($X=OH$, CHO, $COCF_3$) à l'échelle du gramme. La synthèse organique classique a été utilisée ainsi que les outils d'analyse comme la RMN, la spectrométrie de masse pour la caractérisation des produits.

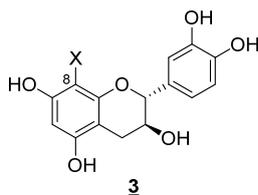


Figure 2. Structure chimique d'une catéchine.

Un des produits ($X=\text{COCF}_3$) s'est avéré particulièrement intéressant et a été confié par la suite au laboratoire de cultures cellulaires à Gif-sur-Yvette où des tests de cytotoxicité et des essais antiviraux ont été effectués sur des lignées cellulaires humaines et animales, normales ou résistantes à des antitumoraux de référence.

5.1.2 Thèse

Etude multifacette en série indazole : a) Fonctionnalisation de l'indazole en position 7 et 3,7 et application à l'inhibition des NO-Synthases ; b) Synthèse et réactivité d'indazoles polynitrés.

L'oxyde nitrique NO, considéré souvent comme un gaz polluant et toxique, est aussi un médiateur cellulaire produit *in vivo* par des enzymes appelées NO-Synthases (NOS) et impliqué dans des processus physiologiques fondamentaux. Il existe trois isoformes de NOS (neuronale n, endothéliale e, inducible i). Les NOS catalysent l'oxydation de la L-arginine en NO et L-citrulline. Malgré une grande similitude, de structure et de réactivité, les 3 isoformes de NOS présentent des caractéristiques distinctes et des différences majeures au niveau de leur expression et de leur régulation. Produit en excès, le NO peut entraîner un grand nombre de pathologies incluant des diabètes, certains cancers et des maladies neurodégénératives (Parkinson, Huntington...). Pour moduler la surproduction de NO, plusieurs inhibiteurs des NOS ont été testés, en particulier le 7-nitroindazole **4** (Figure 3). Des études structurales ont montré que l'interaction du NO avec le site actif de l'enzyme implique de nombreuses liaisons hydrogène.

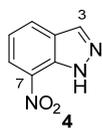


Figure 3. Structure chimique du 7-nitroindazole **4**.

C'est pourquoi notre intérêt s'est porté sur des indazoles fonctionnalisés en position 7 par des groupes électroattracteurs susceptibles de créer des liaisons hydrogène. L'inhibition sélective de la NOS neuronale (nNOS) est un challenge particulièrement important qui fait de ces nouveaux dérivés une plateforme hautement valorisable dans le cadre de la recherche d'inhibiteurs sélectifs des NOS. Ces composés originaux pourraient être utilisés dans le traitement de maladies neurodégénératives.

Le programme des travaux a reposé sur plusieurs volets distincts :

- Un volet « méthodologie » de synthèse qui visait à mettre au point la synthèse des cibles de type **4**, substitués sur le C (7) par un groupe équivalent à un nitro susceptible de s'impliquer dans des liaisons hydrogène. Un schéma de synthèse convergent basé sur la catalyse organométallique a été utilisé : la fonctionnalisation de l'indazole en position 7 a été effectuée par des réactions pallado-catalysées, mettant en jeu les 7-OTf- et 7-iodo-1*H*-indazoles, deux intermédiaires clef qui ont conduit à l'obtention de diverses fonctions en 7 et/ou en 3, 7. La synthèse organométallique, la synthèse organique classique ont été utilisées ainsi que les outils d'analyse comme la RMN, la spectrométrie de masse, les spectroscopies UV-Visible et IR pour la caractérisation des produits.
- Un volet « étude biologique des propriétés d'inhibition vis-à-vis des NO-Synthases (NOS) ». Les composés ont été testés et évalués par la mesure de leur concentration inhibitrice-50 (CI50) sur les trois isoformes de NOS (neuronale n, endothéliale e, inducible i). Ces recherches ont requis des techniques d'analyses biologiques plus spécifiques : mesures de CI50 sur enzymes purifiées par détection de la L-citrulline radio marquée formée à partir

d'arginine marquée, spectroscopie RPE. Les études cristallographiques concernant l'interaction de ces indazoles fonctionnalisés avec la nNOS ont été effectuées au laboratoire du Pr. Raman.

- Un volet « réactivité » des indazoles polynitrés. S'inscrivant dans le contexte des travaux réalisés au laboratoire sur les composés superélectrophiles, la gamme de ces composés a été élargie en procédant à une synthèse systématique des composés polynitrés ayant pour motif de base un cycle indazole. S'agissant de la réactivité électrophile, l'influence du nombre de groupements nitro et l'influence de la position de ces groupements ont été examinées. Ces recherches ont requis un suivi des réactions par spectroscopie UV-Visible et par spectrophotomètre à flux stoppé.

Partant d'une méthodologie générale pour trouver des substitués du 7-nitro-1*H*-indazole, une soixantaine de dérivés indazoles ont été synthétisés. Dans cette série, 19 dérivés indazole ont été testés pour la première fois comme inhibiteurs de l'oxydation de la L-arginine par les n-, e- et iNOS purifiées. Seulement trois d'entre eux, le 7-cyano-1*H*-indazole, le 3-bromo-7-cyano-1*H*-indazole et le 1*H*-indazole-7-carboxamide sont apparus comme des inhibiteurs puissants (IC₅₀ < 200 μM). Ces études ont montré que, bien que portant des substitués différents, les 7-nitro-1*H*-indazole et 7-cyano-1*H*-indazole présentaient de grandes analogies au niveau de leurs mécanismes d'inhibition et de leurs modes d'interaction dans le site actif des NOS. Les résultats nous ont indiqué également que les propriétés électroniques du substituant en position 7 n'étaient pas le seul facteur à prendre en compte, il fallait également prendre en compte la taille, la charge des groupements introduits et les liaisons hydrogène qu'ils pouvaient former avec le site actif de l'enzyme.

3 publications ont permis de valoriser les travaux effectués au cours de ce contrat doctoral.¹

5.1.3 Post-doctorat

Traitement du cancer de la prostate ainsi que d'autres types de tumeurs où le signal MEK5/ERK5 est dérégulé

Ce projet a consisté en la synthèse et l'identification de petites molécules aromatiques sélectives inhibitrices de la kinase ERK5 (extracellular signal-regulated kinase 5). L'activation de la voie de signalisation de ERK5 est associée à la survie, la prolifération et la différenciation cellulaire, c'est pourquoi une surexpression de ERK5 peut provoquer certains types de cancers comme le cancer de la prostate ou d'autres types de tumeurs où le signal MEK5/ERK5 est dérégulé. Par conséquent, la découverte et le développement de petites molécules inhibitrices de ERK5 peuvent offrir de nouvelles thérapies contre le cancer.

L'approche a reposé sur une série d'étapes logiques : identification, sélection et optimisation d'une molécule susceptible d'avoir un intérêt thérapeutique. Ensuite, la cible a été validée par un criblage à haut débit : c'est une méthode qui associe la modélisation moléculaire "drug design" et l'exploration pharmacologique systématique. Elle permet la découverte d'une molécule active avec des propriétés physico-chimiques strictement définies. Sa carte d'identité est établie pour garantir ultérieurement sa reproduction à l'identique. Puis, l'activité est améliorée et le métabolisme de la molécule est évalué. Mon projet de recherche a inclus la conception, la synthèse et l'interprétation des données issues du criblage biologique de ces molécules. Cancer Research Technology a réalisé le criblage à haut débit (HTS) de plusieurs chimiothèques, qui a révélé trois séries de molécules distinctes inhibitrices de ERK5. J'ai travaillé sur une de ces séries à savoir les 3-cyanopyridines. Deux des 3-cyanopyridine **5** et **6** ont été resynthétisées (Figure 4, CI₅₀ = 1,6 et 0,5 μM respectivement).

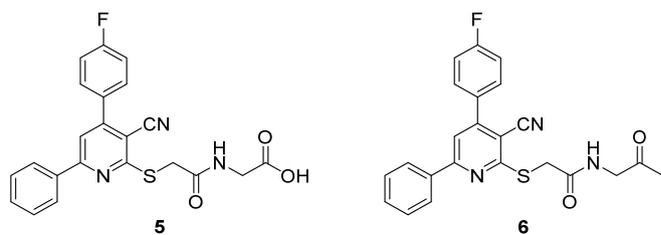


Figure 4. Structures chimiques des 3-cyanopyridines ayant servi de point de départ pour notre étude.

Cette structure 3-cyanopyridine a été considérée comme un point de départ valable pour entreprendre des études de relation structure-activité (SAR). Trois domaines ont été identifiés pour une étude plus approfondie, à savoir la modification de la chaîne latérale thioéther, la modification du substituant aryle, et le remplacement isostérique du motif 3-cyano. De nombreuses techniques ont été requises : des techniques de synthèse organique classique, de la synthèse organométallique, de la synthèse micro-ondes. Concernant les méthodes de purification, pour une meilleure gestion du temps, les purifications ont été réalisées sur colonnes automatisées. Les études structure-activité n'ont cependant pas entraîné d'amélioration de l'activité par rapport aux molécules initiales.

Une publication et un poster ont permis de valoriser les travaux effectués au cours de ce stage post doctoral.²

5.2 Travaux de recherches à INRAE en qualité de chargé de recherche

Ces premières expériences de recherche ont été très enrichissantes, j'ai beaucoup appris en chimie organique de synthèse, en chimie médicinale. Avec les concepts de chimie verte émergents, j'ai passé le concours de chargé de recherche pour ensuite rejoindre INRAE sur un projet complètement nouveau pour moi : « *La biocatalyse des lignines pour une meilleure valorisation de la biomasse végétale* ». Depuis 2009, je fais donc partie de l'équipe APSYNTH « *Biopolymères lignocellulosiques : des assemblages pariétaux aux synthons pour la chimie verte* » au sein de l'Institut Jean-Pierre Bourgin.

J'ai développé 4 axes de recherche complémentaires sur les lignines, allant de la recherche fondamentale à la recherche appliquée, et incluant le développement de méthodes d'analyses des lignines. Avant de les présenter, je vais juste commencer par présenter l'équipe et définir en quelques mots mon objet d'étude, les lignines et les questions scientifiques.

5.2.1 Présentation de l'équipe APSYNTH

Avant tout, pour moi il est très important de préciser que tous « mes » projets passés ou futurs à INRAE reposent sur un travail collectif d'équipe. L'équipe comprend actuellement 6 permanents (Figure 5, INRAE en gris, AgroParisTech en vert) et 5 contractuels (orange). Stéphanie Baumberger, qui dirige l'équipe, a une expérience de vingt ans sur le bioraffinage des lignocelluloses avec des projets nationaux et européens sur la valorisation des lignines et a publié divers articles sur la structure et les propriétés des lignines, notamment en tant qu'antioxydants. Professeure à AgroParisTech, elle coordonne également un programme de formation sur la bioraffinerie et la chimie verte.

Le profil de mon poste a été créé au moment de la fusion entre 2 équipes, l'équipe « lignines et lignocelluloses » dirigée par Catherine Lapierre (Professeur AgroParisTech) et l'équipe « Chimie et Physico-chimie des Produits Naturels » dirigée par Paul-Henri Ducrot (Directeur de recherche INRAE), au même moment que la création de la TGU IJPB. Cette équipe possède une expertise reconnue dans le développement d'outils analytiques (chimie analytique, biochimie, synthèse organique et spectroscopie) pour l'analyse structurale des lignines naturelles et industrielles, pour la compréhension des mécanismes de dépolymérisation de la lignine et concentre ses recherches sur la valorisation des lignines dans les domaines de la chimie des polymères, des matériaux et de la chimie verte. Nos activités sont très complémentaires, à l'interface chimie – biologie. Récemment, suite au départ à la retraite de Catherine Lapierre, Florian Pion a été recruté dans l'équipe en tant que maître de conférences AgroParisTech. J'ai la chance d'être entourée pour tous mes projets d'une aide technique, Amel Majira pour la partie chimie (synthèses et analyses) et Laurent Cézard pour les analyses de lignines.

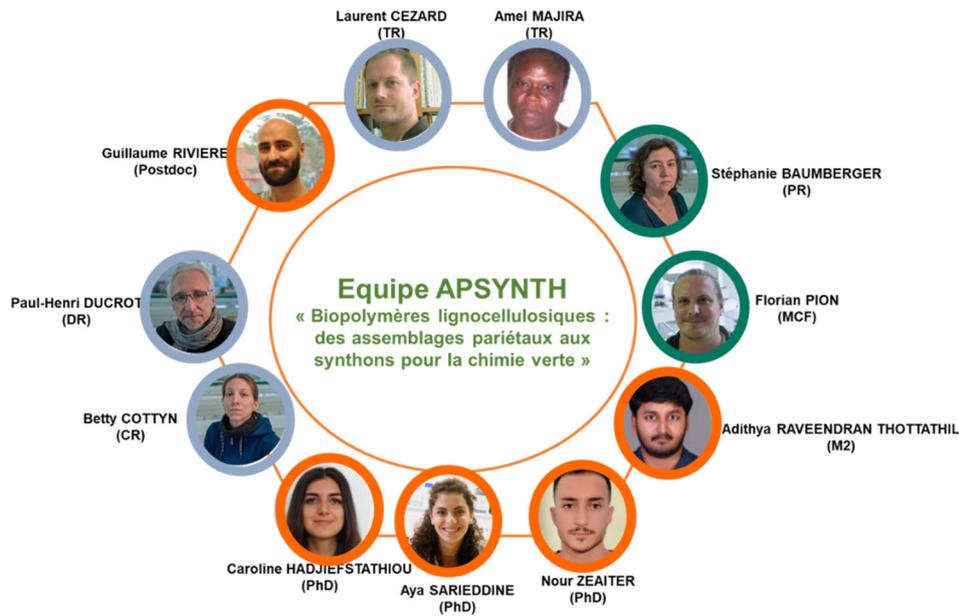


Figure 5. Composition actuelle de l'équipe APSYNTH (2023).

5.2.2 Définitions des lignines et des questions de recherches INRAE

La lignine est le deuxième biopolymère naturel après la cellulose, formée *in planta* par une polymérisation de différents alcools *p*-hydroxycinnamiques qui lui confèrent une structure complexe et encore incomplètement décrite. Associée à la cellulose et aux hémicelluloses, elle constitue l'essentiel de la paroi secondaire des végétaux (Figure 6).

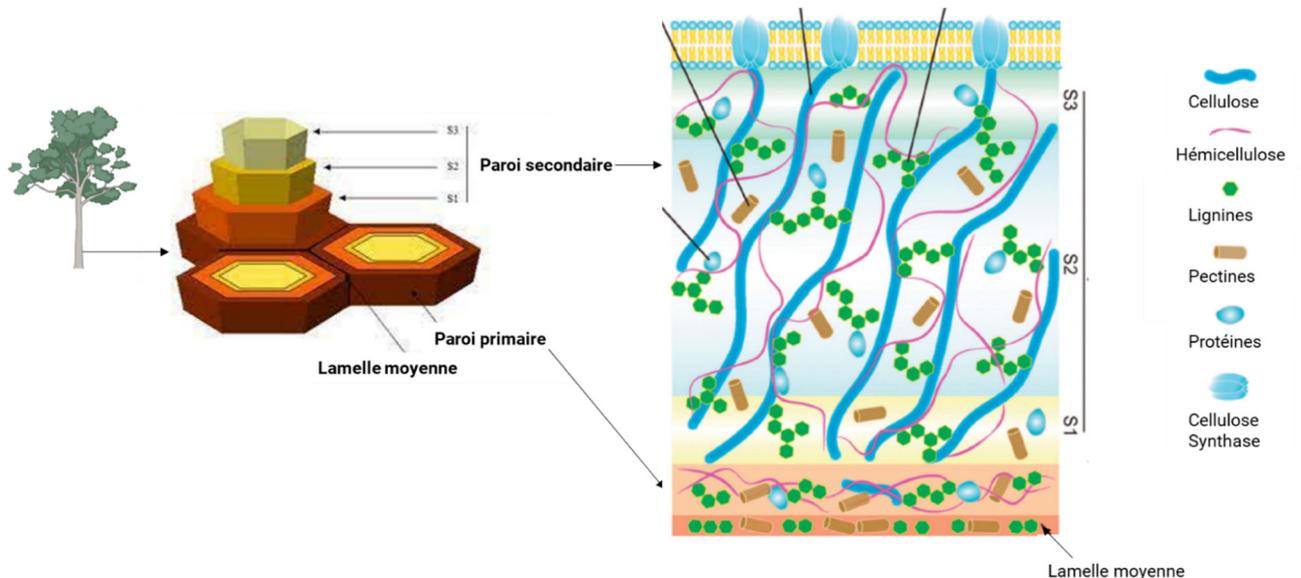


Figure 6. Représentation schématique des principaux biopolymères contenus dans la paroi végétale.³

Les lignines sont des polymères phénoliques intervenant dans la croissance verticale des plantes, elles jouent le rôle d'agent imperméabilisant, provoquant l'exclusion de l'eau des parois secondaires et facilitant son écoulement à travers le tissu vasculaire végétal. Ce polymère phénolique joue un rôle structurel et protecteur dans le développement et la vie des plantes. Les lignines se présentent comme un frein à la transformation de la

biomasse végétale, que ce soit dans l'industrie papetière ou bien dans les bioraffineries, du fait de ses fortes interactions avec les autres constituants de la paroi, de sa forte réactivité chimique et de sa faible dégradabilité. Ces deux derniers facteurs sont intimement liés à sa structure au niveau moléculaire ; il est donc nécessaire d'avoir une compréhension la plus complète possible des mécanismes enzymatiques et chimiques qui gouvernent sa mise en place au sein des parois végétales. Ce n'est qu'ainsi qu'il sera possible de comprendre les spécificités de la biomasse lignocellulosique et d'en estimer les potentialités dans une démarche de valorisation et d'utilisation des lignines, ou de résidus ligneux, pour la fonctionnalisation de matériaux ou la production de molécules biosourcées pour l'industrie chimique.

Les lignines sont des polymères constitués par trois types de monomères différents, les monolignols *p*-coumaryle **7**, coniféryle **8** et sinapyles **9** (Figure 7). Ceux-ci donnent respectivement naissance à des unités de type *p*-hydroxyphényle, guaiacyle et syringyle. Ces monomères diffèrent par le degré de méthylation en positions 3 et 5 du cycle aromatique. La fraction de chaque unité varie de façon importante en fonction de la lignée végétale, de l'espèce, de l'organe et du tissu dont ils sont issus.

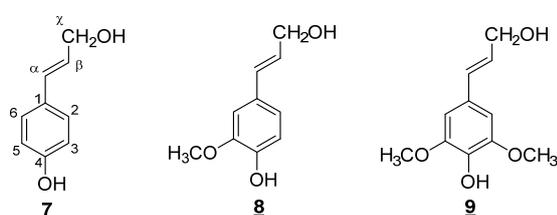


Figure 7. Structures chimiques des unités constitutives des lignines.

Les lignines, provenant de différentes sources naturelles ou industrielles, varient largement en termes de structure et de propriétés chimiques (poids moléculaire moyen, polydispersité, degré de condensation, nombre de groupements présents, type de monomères, type de liens inter-unités, quantité de chaque unité présente). Les mécanismes de la polymérisation responsables de la variation de la composition des lignines utilisent les systèmes catalytiques peroxidase/ H₂O₂ ou laccase/O₂ et le mode de polymérisation fait intervenir un mécanisme radicalaire entre deux complexes déhydrogénés. A ce jour, il existe deux hypothèses, le couplage peut se faire entre le monomère oxydé et le radical phénol du polymère grandissant ou entre deux radicaux phénol provenant de deux oligomères. Du fait de la complexité des lignines en termes de biosynthèse, de structure et d'interaction, les études de la lignification sur plantes normales ou mutées ne sont pas suffisantes. C'est pourquoi il est intéressant de développer des systèmes modèles comme les polymères déhydrogénés (ou DHP) pour avoir plus d'informations concernant la structure des lignines et la fréquence des différents types d'interaction. Pour trouver les mécanismes les plus proches de ceux intervenant dans la formation des lignines natives, *in planta*, il est nécessaire de tester différents modes opératoires, différentes voies de biosynthèse et d'en optimiser les conditions de formation. Ensuite, d'un point de vue analytique, la structure des lignines modèles formées doit être caractérisée par l'analyse des fragments présents. L'élucidation structurale de la structure formée est un point clef pour la compréhension de ces systèmes. Les méthodes d'analyses des lignines utilisées font intervenir la spectroscopie de masse GC/MS, la LC/MS, la chromatographie d'exclusion stérique, la RMN, ainsi que des techniques d'analyse dégradatives comme la thioacidolyse.

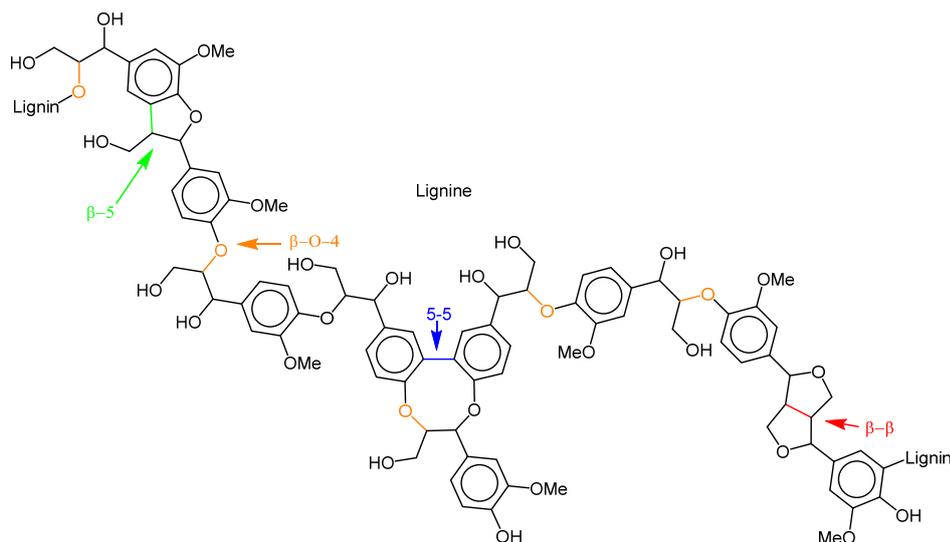


Figure 8. Exemple d'une structure de lignine et nomenclature des liaisons inter-unités.

Dans un second temps, les travaux sur les lignines industrielles issues du fractionnement de ressources lignocellulosiques ont pour objectif d'évaluer leurs potentialités d'usage en relation avec leur structure macromoléculaire aromatique et le procédé associé. En raison de l'inhomogénéité au niveau de leur formation, les lignines et leurs dérivés n'ont eu jusqu'à maintenant que des usages limités. Ces substrats naturels sont plus difficiles à valoriser que les (poly)saccharides naturels bien que plus prometteurs en termes de diversité chimique et de champ d'application potentiel. Les phénols libres des lignines, qui sont des groupes fonctionnels hautement réactifs, peuvent être utilisés comme amorces pour la polymérisation ou pour conférer un potentiel antioxydant aux produits qui en contiennent. De nos jours, les lignines servent généralement à la production d'énergie dans les industries du papier ou des biocarburants, en partie en raison de leur faible solubilité et de leur faible teneur en phénols libres. Cependant, elles peuvent être modifiées et dépolymérisées pour augmenter leur réactivité, leur solubilité et leur teneur en phénols libres afin de produire des produits chimiques de plus grande valeur. Un procédé de conversion des lignines permettant la récupération de molécules de haute valeur ajoutée améliorerait la rentabilité économique des bioraffineries. Ces procédés de conversion ne sont pas censés remplacer entièrement les voies de valorisation existantes mais détourner une partie du flux de lignines existant pour générer de nouvelles chaînes de valeur parallèlement à la combustion ou à la purification des lignines sous forme de polymères. L'une des limites de la plupart des bioraffineries 2G est que les processus sont fortement influencés par la qualité des matières premières. Compte tenu de la grande variabilité et de l'hétérogénéité des déchets et sous-produits de la bioraffinerie, il existe aujourd'hui un besoin crucial de procédés de valorisation robustes et flexibles.

La recherche sur les lignines fait appel à une combinaison de disciplines qui sont la biochimie, la chimie, la biologie moléculaire, la génétique. Mes projets sont à l'interface chimie-biologie, comme la plupart de mes expériences de recherche précédentes. Mon projet scientifique à INRAE part de la compréhension de la structure des lignines, en rapport avec leurs mécanismes de formation *in planta*, et de l'étude des différents paramètres intervenant dans la lignification, par la modélisation *in vitro* des étapes initiales de la polymérisation des alcools hydroxy cinnamiques jusqu'à la valorisation des lignines natives ou industrielles, soit directement en tant que biomatériaux (fonctionnalisation, transformation) soit comme source de synthons pour la chimie organique et la synthèse de nouveaux polymères biosourcés, en associant traitement chimique et biocatalytique pour un meilleur respect des contraintes environnementales. J'ai développé plusieurs axes de recherche :

- 1. l'étude de la lignification et des mécanismes d'oxydation des phénols végétaux :** le suivi cinétique de la polymérisation *in vitro*, l'étude des voies de biosynthèse *in vivo* et les études électrochimiques ont permis de préciser le rôle de différentes oxydases et de différents substrats dans la mise en place des lignines et de proposer un nouveau mécanisme réactionnel spécifique de formation des liaisons de type β -O-4.
- 2. la synthèse de composés phénoliques modèles :** un ensemble de méthodes a été développé permettant la synthèse à façon de monomères, dimères et oligomères d'alcools et acides hydroxycinnamiques.

3. **la valorisation des lignines dans des milieux innovants.** Le but est d'explorer des voies de dépolymérisation des lignines dans des milieux non conventionnels, avec ou sans (bio)catalyse, et donnant accès à des synthons ou des oligomères permettant leur valorisation comme additifs ou macromonomères dans la formulation de polymères biosourcés.

4. les analyses structurales des lignines.

Pour chaque axe, les différents projets auxquels j'ai participé sont expliqués succinctement ci-après.

5.2.3 Axe 1 : Etude de la lignification et des mécanismes d'oxydation des phénols

Le suivi cinétique de la polymérisation *in vitro*, l'étude des voies de biosynthèse *in vivo* et des études électrochimiques ont permis de préciser le rôle de différentes oxydases et des monolignols dans la mise en place (ou biosynthèse) des lignines et de proposer un nouveau mécanisme réactionnel spécifique de formation des liaisons de type β -O-4.

✓ Lignification et mécanismes d'oxydation des phénols végétaux

J'ai réalisé des études mécanistiques dans le but de confirmer une hypothèse émergente au sein de l'équipe sur le mécanisme chimique d'oxydation enzymatique. En collaboration avec P. Waffo-Teguo (Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, université de Bordeaux), j'ai travaillé sur l'identification des différents composés issus de l'oxydation enzymatique des vinyl phénols, dont les monolignols font partie. Suivant plusieurs protocoles expérimentaux (variation des vitesses d'introduction des différents réactifs, concentrations des différentes espèces chimiques ...), il a été possible de démontrer l'apparition de phénomènes de transfert d'électrons entre espèces phénoliques activées et l'obtention d'espèces cationiques dont la réactivité est différente et induit un mode de polymérisation particulier, alors qu'un mécanisme purement radicalaire ne le permet pas. Ces résultats ont permis d'avancer des hypothèses innovantes concernant la spécificité du mode de polymérisation des monolignols *in planta* : la lignification pourrait être pensée comme une cascade de réactions d'oxydo-réduction croisées sous contrôle organo catalytique auto-induit. Ces résultats ont fait l'objet d'une publication.⁴

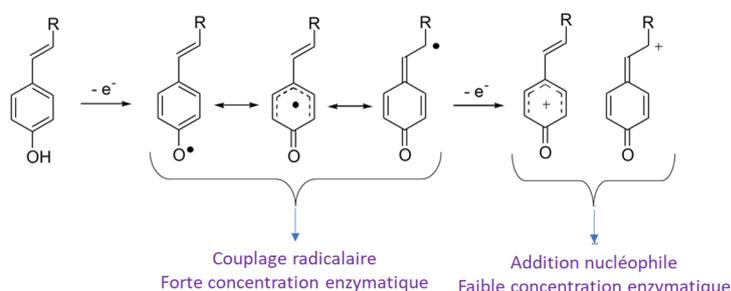


Figure 9. Oxydation des p-vinyl-phénols, au moins 2 possibilités.

✓ Electrochimie appliquée à l'élucidation du processus de lignification

Les études *in vivo* des lignines dans les parois végétales restent encore aujourd'hui délicates. Il est important d'accumuler un savoir fondamental concernant les mécanismes d'oxydation de ces familles de phénols. J'ai tourné mes efforts vers l'étude électrochimique de ces processus d'oxydation. J'ai initié une collaboration avec le Pr. Thierry Martens et le Dr. Michaël Rivard (Institut de chimie et des matériaux Paris-Est - UMR 7182 CNRS) pour étudier le mécanisme chimique d'oxydation enzymatique des dilignols par voltampérométrie cyclique dans le but de compléter les résultats déjà décrits sur l'étude de l'oxydation des monolignols (Figure 10). 3 résultats importants ont pu être tirés de ces travaux. Tout d'abord, les potentiels d'oxydation anodique des dimères se situent tous dans la même zone un peu plus haut que les potentiels des monomères. Ils peuvent être séparés en deux groupes : les dimères possédant une double liaison conjuguée en para du phénol permettent une stabilisation du radical et possèdent un potentiel redox légèrement plus bas que les autres. Il a été démontré également que les couples phénol/phénol cation radical ont des valeurs de potentiels d'oxydation beaucoup plus

grandes (~1 V) par rapport aux couples phénate/radical phénoxy correspondant, ce qui indique que la formation des radicaux phénoxy à partir des alcools *p*-hydroxycinnamiques est très dépendante du pH. Ces résultats expliquent les différences rencontrées dans les cinétiques de transformation des monolignols par des traitements enzymatiques oxydants quand l'enzyme varie, le pH optimal des enzymes étant très différent d'une enzyme à l'autre. Il a aussi été démontré que le dimère β -O-4 avait un comportement électrochimique différent dû à la présence du groupement hydroxyle benzylique, permettant une oxydation à 2 électrons. Ces travaux ont fait l'objet d'une publication.⁵

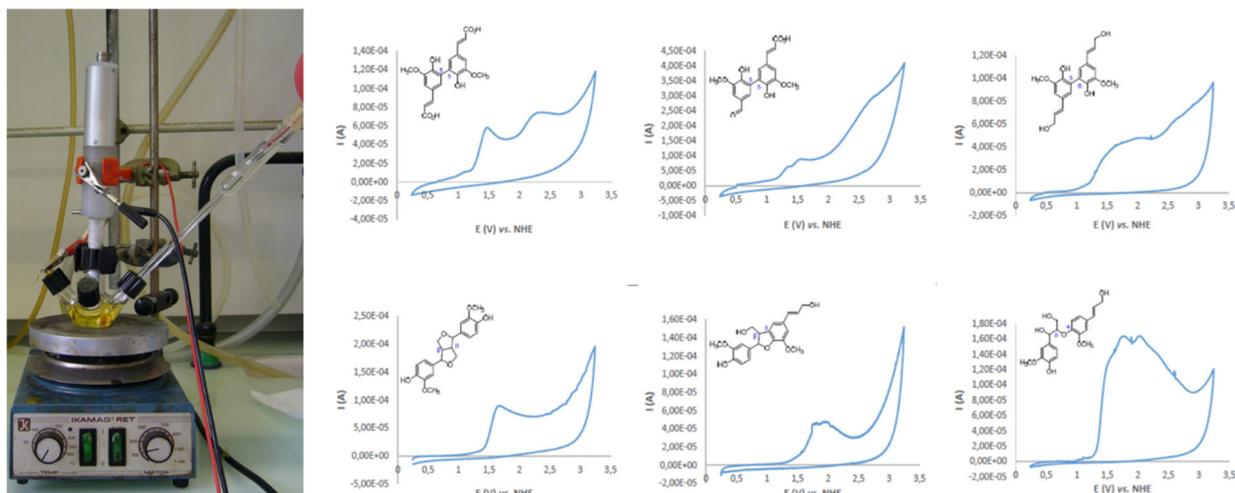


Figure 10. Matériel d'électrochimie utilisé, voltammogrammes des dimères.

✓ Influence des enzymes sur la lignification

J'ai étudié l'influence et le rôle des laccases sur l'oxydation des phénols végétaux, cela dans le cadre de la thèse de D. Baratin (dir. P.H. Ducrot et N. Demont-Caulet). Il est considéré que la polymérisation des monolignols fait intervenir des peroxydases et /ou des laccases encore mal identifiées. 73 et 17 gènes codent respectivement des peroxydases et des laccases chez *Arabidopsis thaliana*, plante modèle dans les sciences du végétal.

Des travaux antérieurs au laboratoire ont permis d'identifier 2 laccases (LAC4 et 17) impliquées dans la polymérisation des lignines *in vivo* et dont l'absence d'expression entraîne une baisse de la quantité de lignines (thèse de S. Berthet au laboratoire).⁶ L'objectif de ce projet était la compréhension de la spécificité des laccases pour un type de monolignols et d'autre part, leur spécificité pour différents types de substrats, monolignols ou flavonoïdes. Ici, les études ont été réalisées sur des systèmes enzymatiques modèles déjà disponibles (peroxydase de raifort HRP, laccase de *Trametes versicolor*, graines) avant d'être appliquées à des enzymes purifiées pour aboutir à un modèle descriptif des différentes étapes d'élaboration des lignines *in planta*. Toutes les études ont été réalisées sur les laccases de champignons commerciales puis transposées aux laccases végétales d'*Arabidopsis thaliana* (*At*). Parmi les 17 laccases d'*At*, nous nous sommes intéressés particulièrement aux laccases LAC4 et LAC17, exprimées fortement dans les tiges. En effet, en l'absence de ces 2 laccases, S. Berthet a observé que les plantes étaient de plus petite taille et qu'il y avait une diminution de la lignification. Alors qu'il est établi que les peroxydases sont impliquées dans la polymérisation des précurseurs de lignines, le rôle des laccases dans la lignification reste énigmatique. *In vivo*, les laccases de plantes et de champignons sont connues pour avoir des activités opposées. Les laccases de champignons sont connues pour délignifier alors que dans les plantes, les laccases sont connues pour induire la polymérisation des monolignols. Pour mieux comprendre le rôle des laccases dans le processus de lignification *in vitro*, des monolignols et des dimères ont été mis en présence soit de laccases de *Trametes versicolor* soit en présence de laccases végétales d'*Arabidopsis thaliana* et des études cinétiques ont été réalisées. Les gènes de laccase ont été exprimés dans les feuilles de tabac pour obtenir des grandes quantités de protéines pour la purification, l'analyse structurale et les expériences *in vitro*. Les résultats concernant la purification des protéines n'ayant pas été concluants, nous avons utilisé directement les graines d'*Arabidopsis* où les enzymes voulues étaient exprimées. Plusieurs types de graines ont été utilisés :

i) les graines du mutant *tt4* qui synthétisent la laccase 15 (pH optimal d'étude 6,6) ; ii) les graines du double mutant *tt4/tt10* qui ne synthétisent pas de laccase (pH optimal d'étude 6,6) et qui servent de témoin négatif ; iii) les graines du double mutant *tt4/tt10* complétement par la LAC4 qui contiennent uniquement la laccase 4 ; iv) les graines du double mutant *tt4/tt10* complétement par la LAC17 qui contiennent uniquement la laccase 17.

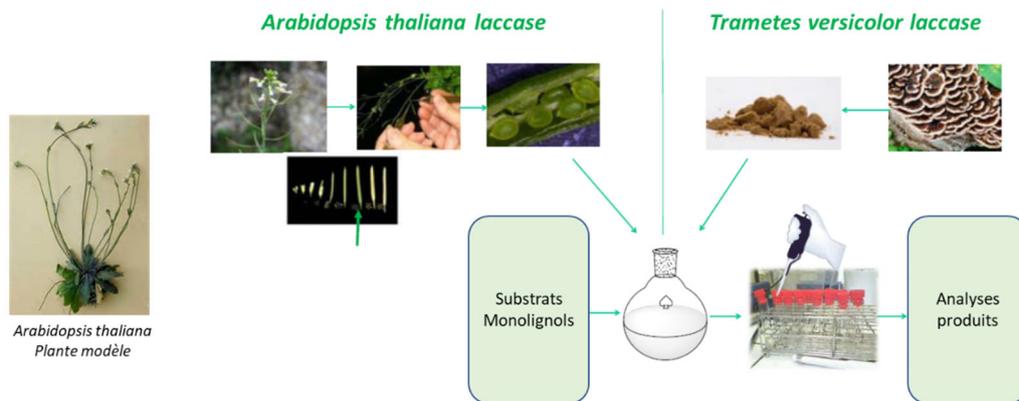


Figure 11. Plante modèle, *Arabidopsis thaliana* et protocoles mis en place.

Nous avons démontré que quelque soit l'enzyme utilisée, une polymérisation des substrats (monomères et dimères) était observée. Il ne semble pas exister de réelle spécificité des laccases végétales pour un type de substrat. A partir d'un simple monolignol ou d'un dimère, une gamme de composés a été obtenue, allant jusqu'à des oligomères ayant un degré de polymérisation 8 dans la fraction soluble. De plus, il ne semble pas y avoir de sélectivité entre les laccases fongiques et végétales. La spécificité observée *in planta* semble à priori plutôt être le résultat de l'expression spatio-temporelle des gènes. Ces résultats n'ont pas été publiés mais nous permettent de comprendre la polymérisation *in planta* aussi bien que la dégradation des lignines par les champignons.

✓ **Projet 3BCAR LignoXyl 2.0 : Oxydation des lignocelluloses par les radicaux hydroxyles générés par voie chimique et enzymatique**

Le projet LIGNOXYL a été financé en 2016 avec la thèse d'Elise Gerbin par l'Institut Carnot 3BCAR, un réseau structuré qui oeuvre pour la transformation de la biomasse pour les Bioénergies, les Biomolécules et les matériaux Biosourcés (les 3 B du CARbone renouvelable). C'est un projet porté par B. Kurek (INRA UMR 614 FARE). Il avait pour objectif de définir les conditions réactionnelles qui permettent des couplages entre les lignines et les domaines cristallins de la cellulose sous l'action des dérivés activés de l'oxygène (ROS). Le but de ce projet était l'obtention de nanocelluloses fonctionnalisées aux propriétés d'intérêt (anti-oxydantes, barrière, émulsifiantes, d'encapsulation) pour un usage comme matériaux composites de type emballage actif, ou revêtements de surface. Je suis intervenue dans ce projet en co-encadrant la thèse d'Elise Gerbin à l'IJPB, pour aboutir i/ à la description des mécanismes de la dégradation oxydative des celluloses et des lignines par les ROS ; ii/ à la prédiction des produits d'oxydation des substrats, iii/ à la définition de conditions réactionnelles qui permettent des couplages entre les lignines et les domaines cristallins de la cellulose sous l'action des ROS. Pour répondre à toutes ces questions, Elise a travaillé sur des composés modèles de lignines, puis caractérisé les films qu'elle a obtenus par LC-MS, HPSEC et RMN pour prouver la formation de liaisons covalentes lignine-sucre. Elise a notamment démontré les relations structure-fonction des films lignines-CNC (nanocristaux de cellulose) et a décrit leurs doubles fonctionnalités et caractéristiques, à savoir leurs propriétés antioxydantes et la présence de radicaux phénoxy persistants dans le matériau (Figure 12). Les résultats de la thèse d'Elise ont fait l'objet de plusieurs communications et de 2 publications.⁷

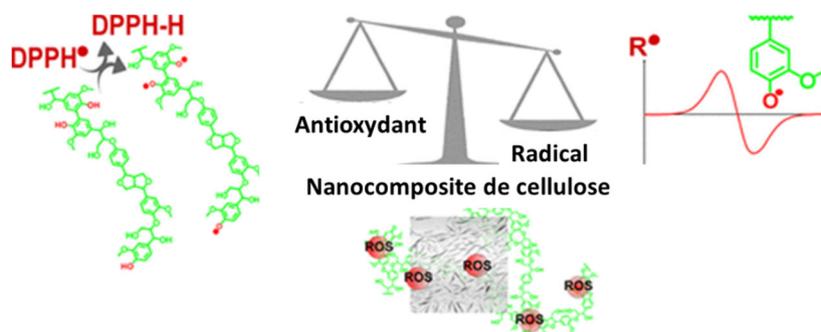


Figure 12. Doubles propriétés, antioxydante et stabilisation des radicaux organiques, dans des films de cellulose fonctionnalisés par polymérisation in situ de l'alcool conférylique.

5.2.4 Axe 2 : Synthèses de composés phénoliques modèles

La plupart des projets de l'équipe repose sur l'utilisation de composés phénoliques modèles pour la compréhension des mécanismes de polymérisation/ dépolymérisation. Je développe depuis plusieurs années maintenant les synthèses totales de molécules phénoliques modèles, allant des monomères, dimères jusqu'aux oligomères d'alcools et acides hydroxycinnamiques (DHPs) (Figure 13).

Monomères modèles		Caractéristiques Degré de polymérisation DP 1			
Dimères modèles		DP 2 $R_1, R_2 = H, OH, OMe; R_3 = CH_2OH, CHO, CO_2H$			
Dehydrogenative polymers DHPs		Exemple d'un modèle de lignines de feuillus riche en structures β -O-4 and $\beta\beta$ Structure organisée DP 8-10			
Lignines isolées au dioxane/ HCl (DL)	Composition H/G/S	% lignines	Propriétés	Masse molaire moyenne Mn (g.mol ⁻¹) 900-2300 Riches en liaisons éthers	
	Résineux	2/98/traces	25-35%		Pauvres en phénols libres, « gros domaines lignines »
	Feuillus	-/32/63	20-25%		Pauvres en phénols libres, « domaines lignines étirés »
	Graminées	5/49/46	15-20%	Présence d'esters féruliques, Riches en phénols libres, « petits domaines dispersés »	
Lignines techniques	Lignines Kraft : lignines industrielles (100000 t/an), présence de S, Mn (g.mol ⁻¹) 1000-1400 Lignines alcalines: pilot plant, Mn (g.mol ⁻¹) 1300-1600 Lignines Organosolv : pilot plant (<1000 t/year), Mn (g.mol ⁻¹) 900-2300			Pauvres en liaisons éthers Contaminations	

COMPLEXITE

Figure 13. Caractéristiques structurales des lignines, des modèles (monomères, dimères, DHPs) aux lignines techniques.

Nous avons besoin de quantités toujours plus importantes de modèles, et encore plus maintenant avec la participation de l'équipe à des projets européens. Actuellement les rendements obtenus sont encore faibles et les étapes de synthèse nombreuses. Pour y remédier, j'ai commencé depuis 2018 à développer la synthèse

enzymatique de modèles de lignines dans les liquides ioniques sous irradiation micro-ondes pour l'obtention sélective en une seule étape et en grande quantité des modèles voulus. L'utilisation des enzymes dans les liquides ioniques et des micro-ondes est très peu étudiée. En accord avec les principes de la chimie verte, je joue sur 3 paramètres : le chauffage (activation micro-ondes ou autre), le catalyseur (oxydases) et les liquides ioniques pour l'obtention sélective de dimères ou oligomères. Le projet est actuellement en cours, des résultats très prometteurs et inattendus ont été obtenus avec des synthèses enzymatiques de dimères plus rapides en milieu biphasique eau/liquide ionique, des meilleurs rendements et des sélectivités complètement différentes de celles habituellement observées. De plus, les liquides ioniques semblent permettre la synthèse de DHP aux structures plus homogènes et régulières. Pour le moment, ces travaux ont fait l'objet d'un poster qui a été présenté aux journées Catalyse hétérogène en milieux complexes organisée par le département CEPIA.

5.2.5 Axe 3 : Valorisation des lignines dans des milieux innovants

Le but est d'explorer des voies de dépolymérisation des lignines dans des milieux non conventionnels, avec ou sans (bio)catalyse, et donnant ainsi accès à des synthons ou des oligomères de faible poids moléculaire permettant leur valorisation comme additifs ou macromonomères dans la formulation de polymères biosourcés.

✓ **Projet 3BCar ASTRALI : Analyse Stratégique sur les Liquides Ioniques : De leur conception à leurs applications dans un contexte de développement durable et d'innovation**

Une des premières pistes était de se tourner vers l'utilisation des liquides ioniques pour dépolymériser les lignines. C'est pourquoi une étude bibliographique complète allant de la conception aux applications des liquides ioniques a été réalisée dans le cadre du projet ASTRALI. Le projet consistait à réaliser une analyse stratégique afin de mettre en perspective les potentialités des liquides ioniques et l'opportunité de leur utilisation dans un contexte de développement durable, tout en identifiant les verrous limitant leurs usages. Cette analyse s'intéressait d'abord à dresser un état des lieux des connaissances scientifiques et technologiques sur les liquides ioniques, ainsi que de leurs applications potentiellement pertinentes pour INRAE et ses partenaires, notamment dans les domaines du carbone renouvelable. Cette étude m'a servi de base pour définir les opportunités de recherches portant sur la synthèse biosourcée de liquides ioniques et/ou leur utilisation en apportant un positionnement de ce groupe de solvants par rapport à d'autres types de solvants. De nombreuses réactions chimiques utilisent des solvants organiques, la plupart étant classés comme dangereux. La production et l'utilisation de ces solvants, issus de la filière pétrochimique, impliquent des risques pour la santé et l'environnement. Leur remplacement par des solvants éco-compatibles est un défi industriel considérable. Dans ce contexte, les liquides ioniques constituent une famille chimique d'intérêt grandissant car ils peuvent d'une part se substituer en partie aux solvants organiques usuels et d'autre part permettre la mise en place de transformations chimiques innovantes dans le respect des principes de la chimie verte. En quelques mots, les liquides ioniques sont des sels possédant une température de fusion inférieure à 100 °C. Comparé aux solvants organiques classiques, ils ont l'avantage d'avoir une faible tension de vapeur, une faible volatilité, une stabilité thermique et chimique élevées, et sont plus facilement recyclables. Néanmoins, nous devons rester vigilants quant à leur toxicité potentielle, leur difficulté de recyclage et leur coût de fabrication élevé qui peuvent réduire considérablement leur potentiel industriel. Ils peuvent trouver des utilisations dans le domaine du carbone renouvelable : leur utilisation a été décrite pour solubiliser les différents constituants de la lignocellulose et peut donc intervenir dans le prétraitement et traitement de la biomasse pour améliorer l'efficacité de conversion en synthons, intermédiaires chimiques et biocarburants.

✓ **Projet européen ZELCOR : ZERo Waste Ligno-Cellulosic bio-Refineries**

L'usage de ressources renouvelables telle que la biomasse, en substitution des ressources fossiles, permet d'obtenir des biocarburants mais aussi des matériaux et des molécules biosourcées pour la chimie et autres domaines d'intérêt. Une pratique qui, dans le contexte actuel de réchauffement climatique et de réduction des ressources en énergies fossiles, a tout son intérêt. Le projet européen ZELCOR (Bioraffineries lignocellulosiques zéro-déchets par valorisation des lignines) coordonné par S. Baumberger (IJPB), avait pour objectif de démontrer la faisabilité d'une transformation des co-produits récalcitrants de bioraffinerie (principalement lignines) en produits bio-sourcés à haute valeur ajoutée pour la chimie fine, les cosmétiques et les plastiques. Le concept du projet consistait à combiner des catalyses chimiques et enzymatiques, dont la bioconversion par des insectes, les termites. Le projet faisait appel à l'ingénierie enzymatique et l'ingénierie des procédés pour concevoir des routes de conversions efficaces et respectueuses de l'environnement (Figure 14). La caractérisation des co-produits a été mise en place pour identifier les biomolécules d'intérêt commercial parmi les nanoparticules multifonctionnelles, les antioxydants phénoliques, les chitosans d'origine entomologique et les intermédiaires aromatiques. Le but du projet était d'améliorer notre connaissance sur les relations entre structures et fonctions et les mécanismes impliqués dans la dépolymérisation catalytique et la bioconversion des résidus récalcitrants. La faisabilité de cette approche a été démontrée par la formulation de produits finaux, l'évaluation de la durabilité et de la sécurité de la chaîne de valeur et la montée en échelle des procédés.

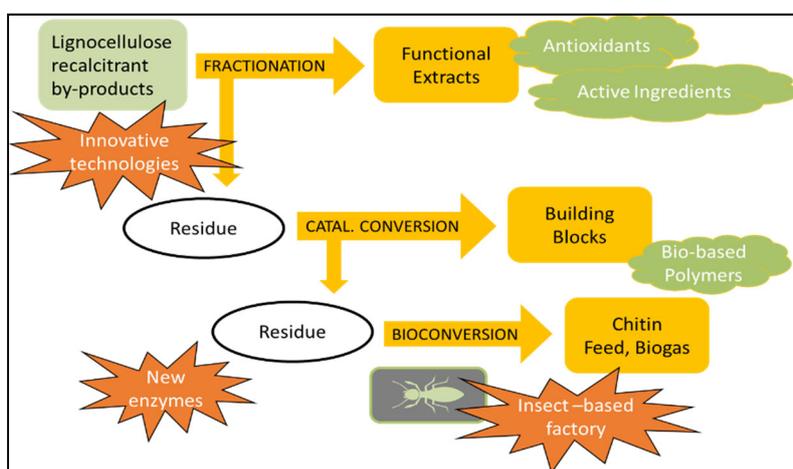


Figure 14. Approche en cascade Zelcor pour la valorisation des sous-produits récalcitrants de la lignocellulose.

Je suis intervenue dans ce projet à plusieurs niveaux :

- Transformation des résidus lignocellulosiques par catalyse chimique :

Les lignines industrielles, qui ont notamment subies des réactions de recondensation, sont appauvries en groupes OH phénoliques. Elles sont susceptibles d'être, à cause de leurs caractéristiques, plus difficilement modifiables. Le postulat initial était que les propriétés fonctionnelles des lignines (solubilité, réactivité, propriétés antioxydantes...) peuvent être modulées par différents types de réactions (déméthylation, substitution, éthérification, estérification...) de part les différentes fonctions chimiques présentes. Ces transformations chimiques se heurtent à deux difficultés majeures que sont leur faible solubilité (et/ou leur repliement qui réduit l'accessibilité des fonctions chimiques réactives) dans les solvants usuels et la difficulté, en cas de transformation partielle, de séparation des produits formés au cours de ces réactions. Je me suis intéressée à la déméthylation des lignines dans les liquides ioniques permettant d'augmenter le nombre de groupements phénols accessibles, d'obtenir des synthons ou biomatériaux possédant des caractéristiques nouvelles (antioxydantes...). Les lignines présentent de nombreuses liaisons éthers de type aryl-méthyle. Plusieurs équipes ont mis au point des

traitements utilisant des liquides ioniques de type imidazolium ou pyridinium en présence ou non d'acides de Lewis pour effectuer une réaction de substitution nucléophile sur le méthyle du groupement méthoxy aromatique entraînant la rupture des liaisons éthers de type aryl-méthyle. Comme dit précédemment, les liquides ioniques contribuent, en plus de leurs propriétés de solubilisation, à assurer l'homogénéité du milieu réactionnel. Je me suis tournée vers l'utilisation de liquides ioniques de type halogénures de N-alkylimidazolium, faciles à synthétiser au laboratoire pour un faible coût. Un liquide ionique spécifique qui permet, moyennant soit un chauffage en tube scellé soit une activation aux micro-ondes, un bon taux de conversion des molécules modèles, a été mis au point.⁸ En outre, ce liquide ionique s'est avéré présenter une acidité suffisamment forte pour permettre, suivant un autre mécanisme chimique (acidolyse), une rupture des liaisons éthers mixtes alkyl-aryl entre sous-unités de la lignine. Les conditions expérimentales ont été appliquées à diverses lignines natives extraites au dioxane à l'échelle du laboratoire et provenant de diverses origines végétales (peuplier, maïs et miscanthus). En fonction des deux types d'activation (thermique ou micro-ondes), le traitement entraîne une augmentation de la proportion des composés de faible masse (dépolymérisation partielle) et de la teneur en phénols libres totaux (Figure 15).

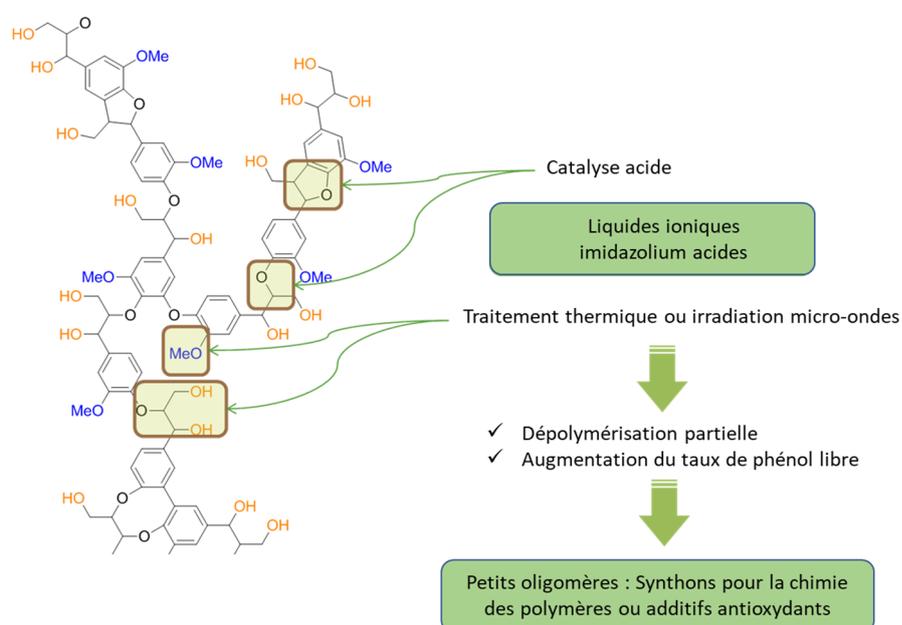


Figure 15. Stratégie générale de conversion des lignines dans les liquides ioniques.

Dans le cadre de ce projet, ces conditions optimisées ont ensuite été appliquées à des fractions de lignines industrielles pour générer des ingrédients fonctionnels biosourcés pour l'industrie des cosmétiques, le recyclage et la toxicité du liquide ionique ont été étudiés en collaboration avec l'Institut national de l'environnement industriel et des risques (INERIS)⁹, la montée en échelle du procédé a été réalisée pour permettre d'augmenter les quantités produites pour pouvoir tester les produits formés dans plusieurs applications, notamment avec Arterra (société italienne de biotechnologie) pour la formulation de produits cosmétiques ciblés. Une analyse du cycle de vie et une étude économique ont également été réalisées avec Nova Institut (Institut de recherche privé allemand, pour renforcer le travail scientifique et technique en le reliant aux matières premières, aux marchés, à l'économie et à l'écologie et à la politique) et Quantis SARL (cabinet suisse de conseil leader en analyse de cycle de vie ACV et spécialisé dans l'accompagnement des entreprises pour mesurer, comprendre et gérer les impacts environnementaux de leurs produits, services et opérations).

- Transformation des résidus lignocellulosiques par catalyse enzymatique et analyses spécifiques pour les différents partenaires du projet :

Dans le but de comparer la catalyse chimique et enzymatique, j'ai également participé à l'analyse des produits obtenus après traitement enzymatique des lignines avec des *Sphingobacterium* sp. T2 manganese superoxide dismutases (collaboration avec T. Bugg, université de Warwick)¹⁰ ou traitement fongique avec *Trichoderma reesei*, un champignon largement utilisé pour la production commerciale d'hémicellulases et cellulases et la modification des lignines techniques (en collaboration avec C. Faulds, BBF Marseille).¹¹ Les résultats du projet Zelcor ont fait l'objet de 6 publications, un fait marquant CEPIA en 2019, 3 communications et 2 posters. Ces travaux ont été réalisés avec les collaborateurs suivants : E. Magnier, B. Pégot (ILV, UMR 8180 CNRS), G. Vo-Thanh (ICMMO, UMR 8182 CMRS), V. Aguié-Béghin, B. Kurek (INRA, UMR 614 FARE), G. Marlair, A. Bado-Nilles, P. Pandard, T. Jayabalan (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques INERIS), T. Bugg (University of Warwick, UK), C. Faulds (INRA UMR 1163 BBF), R. Gosselink (Wageningen Food and Biobased Research, Pays-Bas), Elke Breitmayer (NOVA), Xun Liao (QUANTIS).

- ✓ **Projet IDI : Dépolymérisation des lignines par des liquides ioniques à base de polyoxométallates, application pour la synthèse éco-compatible de synthons et d'oligomères biosourcés à haute valeur ajoutée**

Je suis intervenue dans ce projet en tant que co-encadrante à INRAE de la thèse IDI de Yohan Martinetto, financée par l'IDEX Paris-Saclay, en collaboration avec Sébastien Floquet et Bruce Pégot (Institut Lavoisier de Versailles UMR 8180 CNRS). Ce projet a consisté à étudier un procédé de dépolymérisation des lignines efficace et adapté d'un point de vue environnemental, permettant d'accéder à des produits de dépolymérisation valorisables à l'échelle industrielle. Ici, contrairement au projet précédent, l'utilisation des liquides ioniques (LIs) comme milieu réactionnel pour la dépolymérisation des lignines a été combinée à l'utilisation de catalyseurs, les polyoxométallates (POMs), en raison des effets favorables fournis par les POMs et les LIs et la grande capacité de ces derniers à dissoudre différents types de lignines. L'objectif de ce projet était de concevoir, synthétiser et caractériser ces nouveaux matériaux catalyseurs POMs-LIs pour une dépolymérisation de lignines pour l'obtention d'acides et de diacides carboxyliques. Du fait des grandes modularités possibles entre la nature du POM et celle des cations associés pour former le liquide ionique, un large panel de matériaux a été obtenu. Les premières étapes du projet ont consisté à imaginer et synthétiser de nouveaux liquides ioniques à base des POMs les plus adaptés. Les nouveaux matériaux obtenus ont été caractérisés par des analyses thermiques comme la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) ou l'analyse thermo-gravimétrique (ATG), des analyses rhéologiques, RMN (DOSY, ¹⁸³W...) et IR. Une fois caractérisés, ces composés ont été testés sur des substrats modèles. Les études sur les lignines sont actuellement en cours. Les résultats sont très prometteurs. Ils seront expliqués plus en détails dans la suite du manuscrit (page 44). Ils ont fait l'objet de plusieurs posters et de 3 publications.¹²

5.2.6 Axe 4 : Analyses structurales des lignines

Depuis mon arrivée à INRAE, j'ai pris le temps de comprendre, prendre en main et développer des analyses spécifiques des lignines, en employant en particulier la RMN ³¹P, la RMN 2D et la LC-MS mais aussi la GC-MS, HPSEC-UV-RI. Ces compétences acquises me permettent aujourd'hui de participer à plusieurs projets.

- ✓ **Influence des conditions des prétraitements sur les propriétés physico-chimiques des lignines du mélèze européen**

Ce projet a été réalisé en collaboration avec M. Hochegger, doctorant de l'université de Graz en Autriche, que j'ai rencontré pendant les différents meetings du réseau COST FP 1306. J'ai réalisé plusieurs analyses (ATR-FTIR, RMN³¹P, HPSEC, thioacidolyse) sur les lignines de mélèze obtenues après traitements organosolubles, pour leur développement comme antioxydant et matière première pour la production de biopolymères. Les résultats ont permis la rédaction d'un article dans *International Journal of Chemical Engineering* en 2019.¹³ Un autre article a

également été publié en 2019 dans *Catalysts* portant sur l'optimisation d'autres méthodes d'extraction et de fractionnement, telles que Kraft, Organocell et γ -valérolactone.¹⁴

✓ **Application des laccases pour le traitement de panneaux de fibres**

Ce projet, coordonné par E. Record et S. Garajova (INRAE BBF Marseille), portait sur un procédé de fabrication de panneaux de fibres (panneaux durs) basé sur l'activation de fibres de bois par des laccases à l'échelle du laboratoire. J'ai réalisé plusieurs analyses (LC-MS, RMN³¹P, HPSEC) pour prouver le changement de surface des lignines et le rôle clé des laccases dans l'amélioration des propriétés des panneaux durs. Ces résultats ont fait l'objet de 2 posters et d'un article.¹⁵

✓ **Analyse haut débit des lignines par électrophorèse sur gel d'agarose**

Ce projet a été réalisé en collaboration avec C. Holt et l'université de Leeds en Angleterre. Un obstacle important au développement de méthodes de déconstruction contrôlée des lignines est le manque de méthodes analytiques à haut débit. L'électrophorèse sur gel d'agarose a été développée ici dans ce but, comme nouvelle méthode d'analyse haut débit pour séparer des fractions de lignines selon leur poids moléculaire, leur charge et leur forme. Les lignines Kraft, alcaline et Organosolv ont montré des différences de migration et ont été utilisées pour valider la méthode. L'électrophorèse a permis la purification des échantillons de lignines en coupant et en extrayant des bandes spécifiques, produisant des milligrammes d'échantillons pour l'analyse. J'ai réalisé l'évaluation de la distribution du poids moléculaire par HPSEC et de la structure par RMN des bandes et montré qu'elles étaient cohérentes avec les résultats de l'électrophorèse. La méthode optimisée a ensuite été appliquée avec succès pour étudier la digestion enzymatique, bactérienne, chimique et hydrothermale de différentes lignines, montrant la possibilité de cribler jusqu'à quarante échantillons en moins d'une heure et suivre des cinétiques de dépolymérisation. Dans l'ensemble, ce projet a montré que l'électrophorèse des lignines est une technique fiable et rapide utilisant un équipement familier dans les laboratoires de biochimie fournissant des informations structurales en complément d'autres méthodes. Ces résultats ont fait l'objet d'un article.¹⁶

✓ **Projet européen MILIMO : Microbial conversion of lignin to monomers for bio-based plastics using synthetic biology**

Le laboratoire de T. Bugg (université de Warwick, UK) a lancé le projet EraCoBioTech MILIMO en 2018. Il existe un besoin dans les pays de l'UE de développer de nouveaux types de bioplastiques qui pourraient être utilisés pour remplacer les plastiques actuels à base de pétrole pour une gamme d'applications d'emballage. Le partenaire industriel de ce projet, Biome Bioplastics Ltd (Royaume-Uni), a développé de nouveaux plastiques à base de polyester contenant des substituts à l'acide téréphtalique utilisé dans les plastiques à base de pétrole tels que le polytéréphtalate d'éthylène PET ou le poly(butylène adipate téréphtalate) PBAT. Le professeur Tim Bugg et Biome Bioplastics ont développé une voie biocatalytique dans laquelle 2 bactéries *Rhodococcus jostii* RHA1, et *Pseudomonas putida* KT2440 permettent la production d'acides 2,4- et 2,5-pyridinedicarboxyliques (PDCA) à partir de lignines. Ce projet cherche à améliorer les rendements en 2,4-PDCA et de 2,5-PDCA, pouvant être utilisés comme substituts biosourcés de l'acide téréphtalique, pour développer une chaîne de production. Dans ce cadre, j'ai participé à l'analyse des lignines et des modèles de lignines, après traitement, fournis par les partenaires du projet, principalement par RMN 2D, RMN ³¹P et GC-MS, pour comprendre les mécanismes d'action des bactéries. J'ai également encadré Guillaume Rivière, post-doctorant recruté à l'IJPB pour ce projet.

5.2.7 Projets complémentaires réalisés à l'IJPB

En parallèle des projets de l'équipe, grâce à mes compétences de chimiste dans l'unité, j'ai participé très ponctuellement à différents projets transversaux. Un des objectifs de l'IJPB est de favoriser l'interdisciplinarité et la collaboration scientifique. J'attache une importance à ces projets très différents des miens car ils me permettent des échanges scientifiques dans l'unité, qui est plus globalement orientée vers la génétique ou la biologie moléculaire végétale que vers la chimie des biomolécules, et d'avoir une vision globale des travaux des autres équipes. La chimie, bien qu'elle soit en partie au service des autres disciplines, reste une science à part

entière et permet d'apporter de nouvelles connaissances. Il ne s'agit pas de prestation de service mais de répondre à des questions scientifiques précises.

Voici quelques exemples dans l'ordre chronologique :

- ✓ **Synthèses multi-étapes d'un dérivé de fructose fluorescent** pour l'équipe CATS (IJPB, collaboration R. Le Hir, 2014 et 2022). La croissance des plantes est régulée par le transport de sucres entre organes et au sein des tissus, en fonction des besoins de chaque organe. Ces recherches portent sur l'identification des facteurs clés intervenant dans le transport des sucres et la caractérisation de leur rôle dans le développement. Le fructose fluorescent joue ici le rôle de traceur.

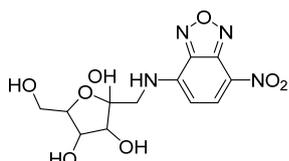


Figure 16. Structure chimique du fructose fluorescent.

- ✓ **Synthèse d'un sidérophore fluorescent** pour l'équipe GAPV (IJPB, collaboration A. Dellagi, 2015) pour l'étude du rôle des sidérophores microbiens dans la modulation des défenses de la plante *Arabidopsis thaliana*. Le projet ANR DESIR déposé portait sur la régulation de l'acquisition du fer par des sidérophores chez le maïs et de l'activation des défenses de la plante. Les sidérophores fluorescents ont été utilisés pour visualiser la localisation du fer chez le maïs et déterminer si le sidérophore affecte la distribution du fer.

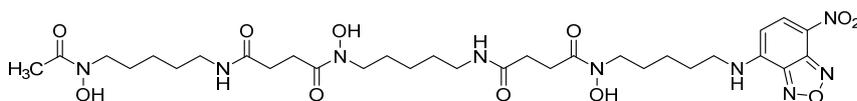


Figure 17. Structure chimique du sidérophore fluorescent.

- ✓ **Synthèse d'un transporteur fluorescent de gibberellin** pour l'équipe NUTS (IJPB, collaboration A. Krapp, 2016). Les gibbérellines (GA) sont des hormones végétales qui participent à un large éventail de processus développementaux. Alors que la signalisation GA est bien comprise, on sait peu de choses sur la façon dont GA est transporté ou comment la distribution GA est régulée. Ici, j'ai synthétisé une GA marquée par la fluoescéine pour suivre l'élongation de l'hypocotyl et la germination d'*Arabidopsis* en imagerie et pour identifier les mutants d'*Arabidopsis* déficients en transport de GA.

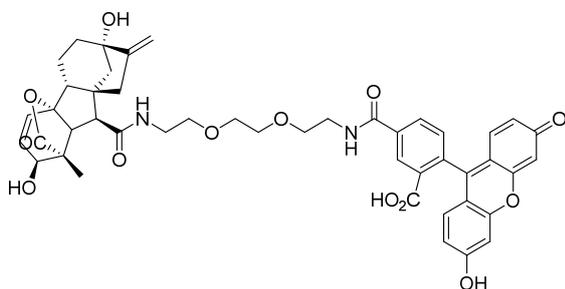


Figure 18. Structure chimique du transporteur fluorescent de gibberellin.

- ✓ LVMH nous a confié la **purification et l'élucidation structurale** (RMN, GC-MS et LC-MS) de plusieurs composés à intérêt cosmétique (afromodial et labdienedial entre autres) **d'un extrait de Longoza**. Les travaux ont été réalisés avec G. Clément (IJPB, collaboration Observatoire du Végétal et LVMH, 2017).

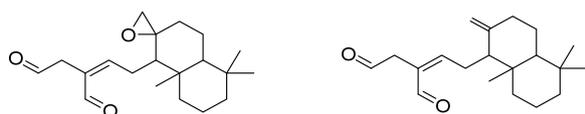


Figure 19. Structures chimiques de l'aframodial et du labdenial.

✓ **Synthèse multi-étape sur phase solide d'un peptide non commercial** pour l'équipe SATURNE (collaboration C. Masclaux-Daubresse, ANR AUTOADAPT, 2018) pour explorer le rôle de l'autophagie et des protéases dans l'efficacité de remobilisation de l'azote. Ces résultats ont fait l'objet d'un article.¹⁷

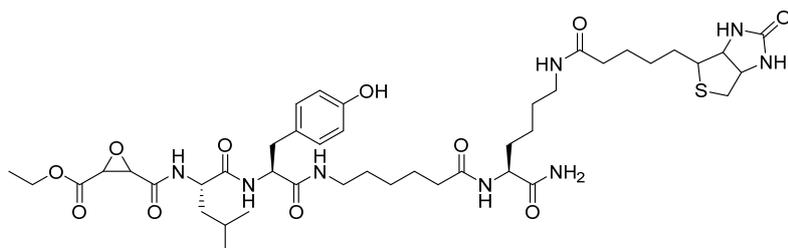


Figure 20. Structure chimique du peptide DCG04.

✓ **Identification par RMN de la vitislactone**, la première strigolactone non canonique identifiée **dans les exsudats racinaires de porte-greffes de vigne**. Les travaux ont été réalisés avec S. Boutet, F. Perreau, P.H. Ducrot, et l'Observatoire du Végétal (Projet Plant2Pro, collaboration V. Lauvergeat, UMR EGFV à Bordeaux, 2021). Les résultats sont en cours de publication.

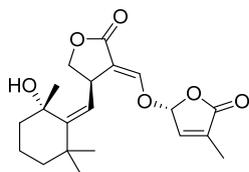


Figure 21. Structure chimique de la vitislactone.

✓ **Développement d'une stratégie de fractionnement pour une bioraffinerie du marc de café**. Les travaux ont été réalisés par notre étudiant de master 2 Adithya Raveendran Thottathil (2022), dont l'encadrement a été partagé avec Florian Pion, maître de conférences AgroParistech recruté récemment dans l'équipe. Les bioraffineries basées sur les déchets alimentaires tels que le marc de café (SCG) suscitent un intérêt croissant pour l'UE en raison de l'augmentation de leur production et pour une valorisation des déchets plus vertes. Le marc de café (provenance Cafés Richard) a été étudié en détail en termes de composition (41,1 % d'hémicelluloses, 16,2 % de lipides, 1,5 % de cellulose, 1 % d'humidité, 1 % de cendres, 0,4 % de protéines et 21,1 % de résidus insolubles Klason). Les fractions extractibles du marc de café (SCG) ont été étudiées à l'aide d'extractions conventionnelles et assistées en utilisant différents solvants et températures. Et des méthodes de séparation des « lignines » telles que les traitements au dioxane organosolv et à la soude ont été réalisées pour étudier la fraction résiduelle non polysaccharidique. Les résultats ont montré que les résidus obtenus ne se comportaient pas comme des lignines. Les rendements d'extraction et la capacité antioxydante des extraits a été évaluée. Sur la base des résultats de cette étude, une stratégie de fractionnement séquentiel SCG consistant en un fractionnement des lipides à base d'hexane, un fractionnement à base de méthanol des antioxydants et un fractionnement de l'hémicellulose à base d'eau ont été proposés. Les résultats seront publiés prochainement.

5.2.8 Bilan des projets INRAE depuis le recrutement

Depuis mon recrutement en 2009, j'ai donc commencé mes travaux en me familiarisant avec la chimie des phénols, je me suis intéressée au développement de nouvelles méthodologies synthétiques dans le domaine des lignanes et autres molécules phénoliques à haute valeur ajoutée. J'ai ensuite démarré le projet de modélisation chimique de la biosynthèse des lignines tout en formant des étudiants à la recherche. Avec des résultats substantiels en recherche fondamentale, j'ai ensuite abordé la partie valorisation des lignines et des lignocelluloses et la recherche appliquée. Ces années de travail au sein de l'équipe m'ont permis :

- De trouver de nouvelles informations mécanistiques sur la formation des lignines,
- De comprendre le mécanisme d'oxydation durant les premières étapes de la lignification par voltampérométrie cyclique,
- De développer de nouvelles méthodologies de synthèse de modèles de lignines,
- De développer de nouvelles méthodologies de dépolymérisation des lignines.
- De développer de nouvelles analyses des lignines au laboratoire.

Les projets semblent très diversifiés, cependant il existe un fil conducteur entre tous ces projets, nécessaires pour avoir une vision d'ensemble des chaînes de valeur. Pour mener à bien ces projets et réunir les compétences qui nous faisaient défaut dans l'équipe, j'ai initié plusieurs collaborations aujourd'hui solides et fructueuses. Les partenaires sont à la fois internes à l'institut ou externes et de compétences transversales. Je pense avoir réussi à trouver ma place, à développer mon autonomie et à contribuer activement à des projets originaux auxquels je peux apporter un regard nouveau et complémentaire par mon expérience de chimiste. Ces nouvelles thématiques permettent de fédérer nos compétences autour d'un projet d'équipe pertinent qui s'intéresse aussi bien aux aspects mécanistiques et fondamentaux de la lignification qu'à la valorisation de la biomasse lignocellulosique (Figure 22).

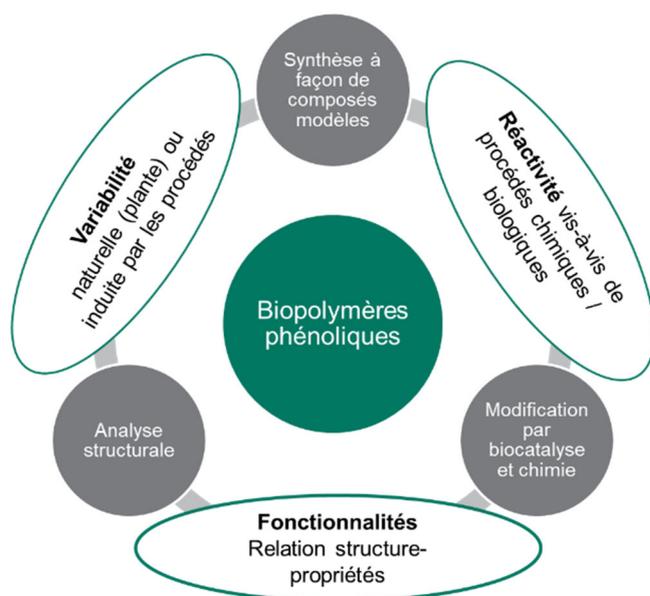


Figure 22. Vision d'ensemble des questions scientifiques

J'ai su saisir les opportunités grâce aux projets coordonnés par l'équipe et j'ai participé à plusieurs réseaux européens (projets européens ZELCOR, MILIMO, Actions COST FP1306 "Valorization of lignocellulosic biomass side streams for sustainable production of chemicals, materials and fuels using low environmental impact technologies" et COST CA17128 LignoCOST "Establishment of a pan-european network on the sustainable valorization of lignin) me permettant d'avoir une meilleure visibilité à l'extérieur d'INRAE. J'ai également réussi à m'intégrer dans un nouveau réseau de partenaires nationaux travaillant sur la chimie verte et utilisant différentes technologies comme les liquides ioniques, les micro-ondes, les fluides supercritiques.

5.3 Perspectives, projets de recherche INRAE

5.3.1 Futurs projets de recherches, questions scientifiques

J'ai appris de mes précédents projets que la mise en place de nouveaux schémas de traitement de la biomasse est essentielle pour atteindre la neutralité carbone et lutter contre le réchauffement climatique. La biomasse peut fournir une gamme de monomères et de macromolécules avec un grand potentiel pour remplacer les matériaux à base de pétrole dans une large gamme d'applications. Bien des développements importants sont en cours dans le domaine de la bioraffinerie, des partenariats multidisciplinaires sont primordiaux pour accélérer et réduire les risques d'industrialisation de ces technologies, et une vision intégrée est nécessaire pour atteindre la faisabilité des processus. Il est important d'explorer des approches ascendantes et descendantes de valorisation de la biomasse basées sur les principaux polymères et monomères pouvant être extraits ou isolés de la biomasse, et d'avoir une idée de la faisabilité économique, et des ressources disponibles.

Grâce aux différents projets de l'équipe auxquels j'ai participé, j'ai maintenant une vision beaucoup plus globale des enjeux scientifiques, socio-économiques et techniques nécessaires. L'essor des bioraffineries lignocellulosiques conduit à une production croissante de co-produits principalement composés de lignines. Alors que plusieurs secteurs industriels se tournent vers ces polymères phénoliques comme alternatives biosourcées et sûres, leur utilisation pour des applications à haute valeur ajoutée (ex. ingrédient cosmétique ou additif multifonctionnel pour les plastiques) nécessite des traitements chimiques ou enzymatiques pour améliorer leurs caractéristiques physico-chimiques, ce qui induit un coût économique et environnemental supplémentaire. Intégrer les fonctionnalités des lignines comme critère de sélection des plantes et de conception des procédés de bioraffinerie permettrait d'accroître la durabilité des filières en réduisant les coûts associés au post-traitement des lignines et en favorisant une bioraffinerie intégrée sans déchets répondant aux attentes de l'économie circulaire. L'enjeu est maintenant de générer des connaissances sur la variabilité des fonctionnalités des polymères phénoliques (lignines), de la plante au bioproduit, pour comprendre le rôle des lignines dans la réponse de la plante aux changements climatiques et orienter la conception de nouvelles chaînes de valeurs exploitant les lignocelluloses.

« Mes » projets s'inscrivent dans la politique de développement d'une bioéconomie circulaire mise en œuvre par INRAE et à laquelle l'IJPB contribue par la mise au point et l'exploitation de bioressources végétales adaptées aux contraintes environnementales et aux attentes des filières de transformation de la biomasse. L'objectif est de proposer un continuum entre recherche fondamentale et recherche appliquée, en adossant à la connaissance de la variabilité naturelle *in planta* des biopolymères phénoliques, l'évaluation de son impact sur le potentiel de valorisation des lignines (Figure 22). Finalement mes futurs projets sont complémentaires et inter-connectés, toujours interdisciplinaires, avec un axe portant sur la compréhension des mécanismes intervenant dans la mise en place des parois cellulaires végétales, un axe portant sur le fractionnement des lignocelluloses, et un axe portant sur la dépolymérisation des lignines (Figure 23 ci-dessous). Le contexte, les objectifs, la méthodologie choisie et les résultats attendus de chaque projet sont détaillés ci-après.

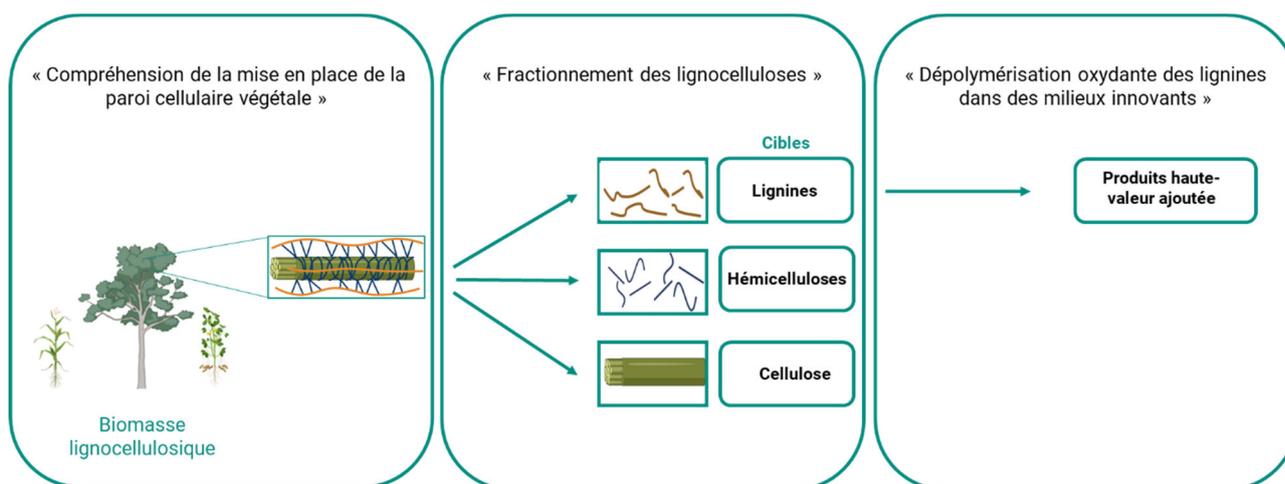


Figure 23. *Connections entre les futurs projets de recherche.*

5.3.2 Axe « Dépolymérisation oxydante des lignines dans des milieux innovants »

Comme expliqué précédemment, j'étudie la mise en œuvre de procédés éco-responsables pour la valorisation des lignines. Entre autres, je travaille sur la dépolymérisation oxydante des lignines à l'aide de liquides ioniques à base d'anions Polyoxométallates POM (suite des travaux de thèse de Y. Martinetto, thèse de Nour Zeaiter dirigée par S. Floquet, collaboration Institut Lavoisier de Versailles ; projet ANR PHOTO-POM déposé en 2023).

i) Contexte

Ce projet vise à développer de nouvelles voies de dépolymérisation des lignines pour atteindre les molécules ciblées d'intérêt pour l'industrie. L'objectif ici est la valorisation des produits non alimentaires renouvelables et l'exploitation des phénols inclus dans les lignines.

Pour récupérer des synthons à partir des liqueurs noires des pâtes et papiers, des lignines industrielles purifiées, ou directement à partir du bois ou de la paille, la principale voie étudiée jusqu'à présent et développée à l'échelle industrielle ou pilote est la voie thermochimique. Ces traitements drastiques à haute température (gazéification, pyrolyse, hydrocraquage, etc.) présentent l'avantage de rendements de conversion élevés en produits chimiques mais sont consommateurs d'énergie. De plus, du fait de la perte des structures et fonctionnalités initiales, elles ne conduisent qu'à des applications de faible valeur. Des traitements chimiques plus doux, utilisant la catalyse oxydante ou réductrice, conduisent à la dépolymérisation des lignines, respectivement avec fonctionnalisation et simplification des dérivés aromatiques des lignines.¹⁸ Le traitement hydrothermique avec de l'eau supercritique peut aider à atteindre cet objectif, mais le processus nécessite des températures bien supérieures à 100°C.¹⁹ Certaines voies sont actuellement à l'étude pour la dépolymérisation des lignines telles que i) la recherche de milieux alternatifs capables de dissoudre la biomasse ou de diminuer sa récalcitrance ; ii) la recherche de nouvelles technologies d'activation ; et iii) la conception de nouvelles surfaces catalytiques plus adaptées à la structure chimique de la biomasse. Toutes ces études fondamentales visent non seulement à produire des produits chimiques à bas prix mais aussi à créer de nouvelles fonctionnalités à partir de la biomasse pour ouvrir de nouveaux marchés. La dépolymérisation des lignines est un défi du fait de la forte compétition entre la dégradation des macromolécules et la repolymérisation des intermédiaires formés. Bien que de nombreuses recherches aient déjà été menées sur la dépolymérisation des lignines, les principaux problèmes restent le manque de sélectivité et les faibles rendements en produits obtenus.

Les liquides ioniques (LI), notamment lorsqu'ils associent des anions polyoxométallates (POM) et des cations organiques, présentent un intérêt indéniable dans de nombreux domaines.²⁰ En associant les POM aux LI, leurs propriétés sont cumulatives et un effet synergique est attendu. En effet, lorsque la nature fortement oxydante des POM est couplée à la propriété solvante des LI, cela provoque des transformations importantes au sein de la

biomasse. Les POM étant polyanioniques, les édifices formés par les cations organiques autour des POM forment des micelles avec une couche hydrophobe externe facilitant l'interaction entre le catalyseur et les réactifs. Peu d'exemples peuvent être trouvés dans la littérature pour la valorisation de la biomasse par des POM-LI. Une étude très récente réalisée par Ju *et al.* a permis de comprendre les différentes interactions ainsi que le mécanisme de solubilisation possible d'un modèle de lignine, le guaiacylglycerol- β -guaiacyl ether (GGE) contenant une liaison β -O-4, dans un POM-LI, le (bmim)₃ [PW₁₂O₄₀].²¹ En 2019, Cai *et al.* ont optimisé un procédé en autoclave sous pression d'oxygène, utilisé des POM-LI de type (mimBS)Co[PW₁₂O₄₀], et ont produit sélectivement 73% de maléate de diéthyle dans l'éthanol, convertissant 94,5% des lignines.²² Un POM-LI, défini comme étant à l'état de gel à température ambiante, a été utilisé par Li *et al.* et a permis la dépolymérisation complète de la lignocellulose en un produit chimique à haute valeur ajoutée.²³ Ce procédé "one-pot" sous 1 bar de O₂ utilise (mimPS)₂H₄[P₂Mo₁₈O₆₂] comme catalyseur dans l'éthanol et permet de réaliser les différentes étapes de valorisation de la biomasse (prétraitement, délignification, séparation) en changeant la température. Outre le glucose et le xylose issus de la transformation de la cellulose et de l'hémicellulose, la fragmentation des lignines avait produit majoritairement du gaiacol et du phénol avec des rendements massiques de 15 % et 13 % respectivement. De Gregorio *et al.* ont suggéré une nouvelle méthode de dépolymérisation oxydante des lignines. Leur méthode utilise le POM H₅[PV₂Mo₁₀O₄₀] comme catalyseur, solubilisé dans (Hbim)[HSO₄].²⁴ Ce POM dans le LI a ensuite été mis en contact avec des lignines en présence d'oxygène moléculaire ou H₂O₂, produisant principalement de la vanilline et du syringaldéhyde sans suroxydation en acide carboxylique. Shi *et al.* ont également appliqué cette méthode en solubilisant K₁₀[P₂W₁₇O₆₁] dans (emim)[HSO₄] pour décomposer la lignocellulose en présence de peroxyde d'hydrogène.²⁵ Selon la température et la concentration en H₂O₂, les fragments de lignines étaient principalement des acides aromatiques, des cétones aromatiques et des aldéhydes.

Récemment, au laboratoire, nous avons apporté la démonstration que certains liquides ioniques couplés à un chauffage conventionnel ou à une activation par micro-ondes pouvaient dépolymériser partiellement les lignines et augmenter significativement leur teneur en phénols libres sans utiliser de solvants volatiles organiques ou d'autres réactifs chimiques.²⁶ La conversion de la fraction oligomérique en ingrédients antioxydants, avec une meilleure homogénéité et dépourvue de contaminants, a été réalisée à l'échelle du gramme et a permis d'établir des relations structure-propriétés et de comprendre la réactivité des lignines vis-à-vis d'un traitement chimique avec un liquide ionique. L'élimination des phénols de faible masse molaire avant le traitement a amélioré le rendement de récupération des produits intermédiaires fonctionnels, ce qui a mis en évidence l'intérêt d'un procédé en cascade combinant extraction par solvant et traitements de dépolymérisation. Des informations sur la sécurité et l'écotoxicité du liquide ionique sélectionné ont été obtenues et montrent qu'il fournit un réactif alternatif ininflammable et recyclable pour des processus durables.²⁷ Ces résultats prometteurs peuvent être améliorés en les couplant avec de nouvelles technologies vertes comme la catalyse ou d'autres méthodes d'activation. La mise en œuvre de ces procédés pourrait offrir une dépolymérisation des lignines respectueuse de l'environnement, en l'absence de solvant organique et l'utilisation de basse température, en gardant à l'esprit que le principal défi associé à la dépolymérisation oxydative des lignines est d'empêcher les réactions de recondensation des espèces radicalaires.²⁸

De plus, des résultats récents obtenus dans le cadre du travail de thèse de Yohan Martinetto (cf. projet IDI) ont mis en évidence que la combinaison de polyoxométallates (POM) avec des cations phosphonium organiques appropriés conduisait à des liquides ioniques POM (POM-LI) présentant des constantes diélectriques très faibles et une viscosité suffisamment faible pour agir comme un bon solvant pour les substrats organiques et aussi pour les biopolymères tels que les lignines. Les POM sont connus pour leurs propriétés catalytiques et sont décrits comme des oxydes moléculaires qui résultent de l'auto-assemblage d'octaèdres MO₆ (M est très souvent Mo^{VI} ou W^{VI}) en général autour d'anions inorganiques pour donner des structures appelés POM de type Lindqvist, Keggin ou Dawson (Figure 24). Leur synthèse relativement facile à grande échelle conduit à une très grande variété de composés présentant des propriétés dans de nombreux domaines tels que la catalyse, l'électrocatalyse ou la photocatalyse.²⁹ Cette diversité les rend très attractifs pour relever les défis industriels, sociétaux ou environnementaux d'aujourd'hui et de demain.

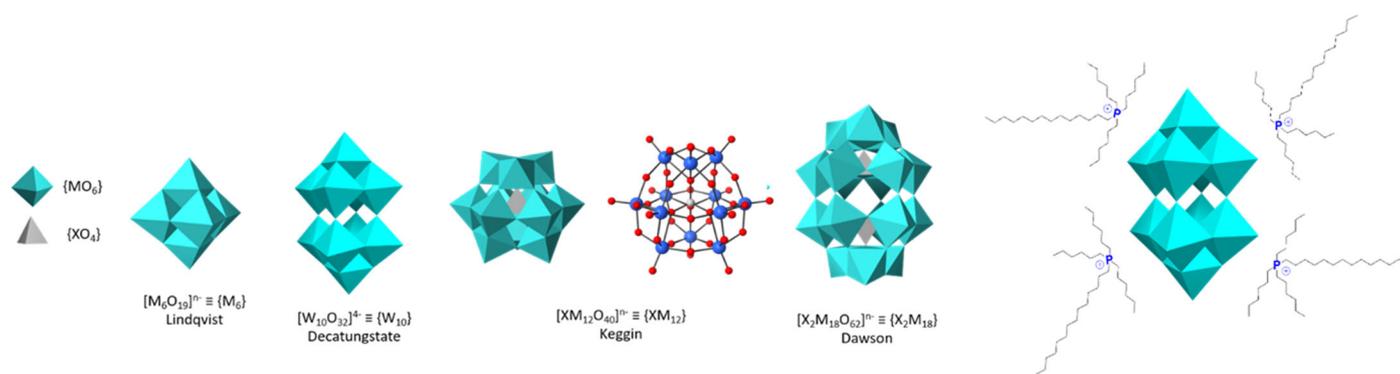


Figure 24. Diversité des structures POM et représentation du POM-LI $(P_{6,6,6,14})_4[W_{10}O_{32}]$.

Dans le cadre de la thèse de Yohan Martinetto, des liquides ioniques à base de POM (POM-LI) ont été synthétisés, caractérisés et testés en catalyse oxydante. En particulier, nous avons mis en évidence que ces matériaux étaient capables de solubiliser des substrats organiques, des molécules simples aux biopolymères plus complexes, et de catalyser leur oxydation, à pression atmosphérique, dans la gamme de température 60-90 °C et en présence de H_2O_2 , le POM-LI jouant le rôle de solvant et de catalyseur. En particulier, le POM-LI $(P_{6,6,6,14})_4[W_{10}O_{32}]$ appliqué aux résidus de lignines, a révélé une dépolymérisation rapide et totale des lignines (Figure 25, publication en cours).

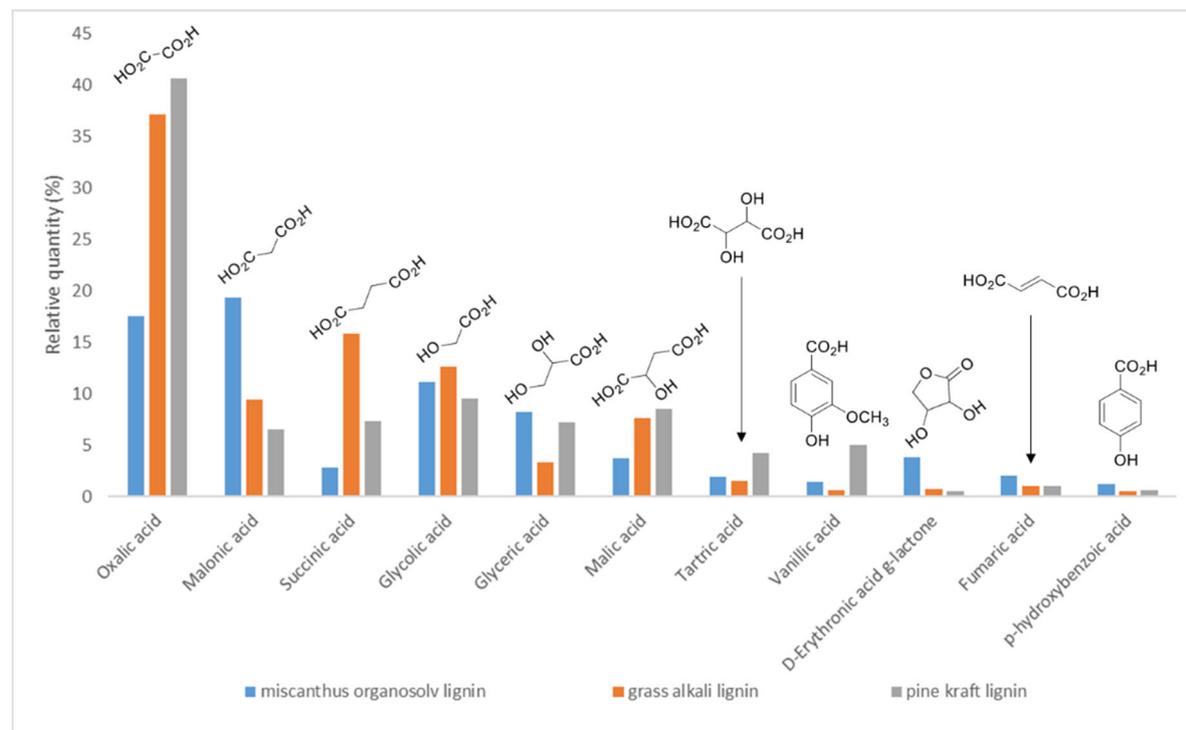


Figure 25. Molécules obtenues après dépolymérisation des lignines (GC-MS) avec le POM-LI $(P_{6,6,6,14})_4[W_{10}O_{32}]$, H_2O_2 , 90°C, 1h, P_{atm} .

Cependant, ces réactions manquent actuellement de sélectivité, les composés aromatiques qui composent les lignines sont également clivés, et le catalyseur évolue lentement après 3 cycles vers l'espèce Lindqvist $[W_6O_{19}]^{2-}$ moins performante. Compte tenu de la diversité des POM (Figure 24), dans la continuité de ces travaux, ce projet vise à synthétiser d'autres POM-LI. A cet effet, les POM de ce projet seront sélectionnés en considérant leurs propriétés catalytiques et leur robustesse. Les propriétés chimiques, physiques et rhéologiques des POM-LI seront entièrement caractérisées. L'objectif est d'obtenir des POM-LI suffisamment stables pour envisager le recyclage du catalyseur et de trouver des POM-LI qui seront plus sélectifs pour la dépolymérisation de divers résidus de biomasse en composés aromatiques d'intérêt pour l'industrie. Les résultats nous incitent à étudier davantage de systèmes et d'autres conditions expérimentales. En particulier, les composés POM présentant une

bande d'absorption dans le proche UV ou le visible. Ainsi, un POM à l'état fondamental peut être irradié par une lampe UV ou LED et passer à l'état excité. Dans cet état, certains POM catalytiquement inactifs à l'état fondamental, peuvent devenir de puissants catalyseurs, capables d'oxyder ou de réduire une grande variété de substrats. Par exemple, le decatungstate $[W_{10}O_{32}]^{4-}$ est considéré comme un photocatalyseur robuste et efficace qui s'est avéré très polyvalent en raison de sa capacité à catalyser de nombreuses réactions organiques sur des substrats tels que les alcanes, les alcènes, les alcools, etc.³⁰ Par conséquent, Les POM-LIs apparaissent comme des candidats très intéressants pour la catalyse et la photocatalyse des lignines.

ii) Objectifs

Ce projet est consacré à l'utilisation de liquides ioniques à base de polyoxométallates (POM-LI) pour piloter la dépolymérisation oxydante contrôlée des lignines et permettre la production de molécules à haute valeur ajoutée, pour le développement d'applications spécifiques (ex : additifs pour polymères, anti-oxydants, plastifiants, colles spécifiques ou émulsifiants). L'objectif scientifique est de comprendre l'impact de l'utilisation de liquides ioniques à base de polyoxométallates (POM-LI) combinés à la photochimie (ou non) pour la conversion des lignines en molécules aromatiques biosourcés à haute valeur ajoutée. Ce projet de recherche fondamentale porte sur : i) la conception de nouveaux POM-LI robustes, stables, réutilisables, fluides, efficaces et sélectifs comme catalyseur et bon solvant pour les lignines, ii) l'évaluation du potentiel de la photocatalyse comme option de traitement de la dépolymérisation oxydante des lignines associée aux POM-LI par rapport aux approches catalytiques habituelles, nous recherchons des POMs capables de réaliser des réactions photocatalytiques dans des conditions douces, sous illumination dans le domaine visible avec efficacité et une bonne recyclabilité; iii) la compréhension des mécanismes du système catalytique ; iv) et l'analyse des produits dérivés des lignines.

iii) Méthodologie/ stratégie

a) Production de lignines modèles, sélection des lignines techniques et fractionnement des lignines.

Les modèles de lignines comprendront des composés purs monomères et dimères, des lignines synthétiques (DHP) de poids moléculaire intermédiaire, ainsi que des lignines isolées au dioxane de haut poids moléculaire. Le choix d'utiliser des lignines "sur mesure" est un bon point de départ pour comprendre les mécanismes mais peut être trop éloigné des lignines dites techniques (ou industrielles). C'est pourquoi les lignines techniques, fractionnées ou non (kraft, alcalines, organosolv) seront également étudiées. Tous les modèles, présentés par ordre de complexité croissante sont résumés dans la Figure 4 présentée précédemment.

➤ Synthèse de monomères et dimères de lignine : nous avons développé depuis plusieurs années une expertise dans la synthèse totale de telles molécules modèles qui sont des monomères et dimères de monolignols et des aldéhydes et acides correspondants impliquant soit des liaisons éther soit des liaisons condensées entre sous-unités (page 33).³¹ Toutes les étapes chimiques nécessaires ont été optimisées afin de produire des quantités substantielles des molécules ciblées par des méthodes synthétiques ou enzymatiques. Ces méthodes permettent la préparation de syringaresinol, β - β , β -5 et 5-5 avec une grande pureté à l'échelle du gramme.

➤ Synthèse d'oligomères (polymères déhydrogénés DHP) : Des molécules plus complexes seront préparées à l'échelle du gramme à travers les protocoles développés précédemment utilisant la polymérisation enzymatique des alcools coniféryliques et sinapyliques et conduisant à des fractions oligomériques (DHP) de structures diverses,³² de relativement faible polydispersité, avec des degrés de polymérisation moyens autour de 8 à 10 et des propriétés ajustables comme les propriétés de solubilité en fonction de leur teneur en phénol libre.

➤ Extraction de lignines natives : l'isolement des lignines avec du dioxane sera effectué pour obtenir des lignines provenant de différentes matières premières. En effet, comme dit précédemment, les lignines isolées au dioxane (DL) cumulent plusieurs avantages par rapport aux autres types de lignines : elles conservent la plupart des caractéristiques structurales des lignines natives, notamment une forte proportion de liaisons β -O-4, elles présentent un faible degré de contamination, qui sont susceptibles d'interférer lors du traitement et de l'analyse des lignines, et elles contiennent une forte abondance de fraction extractible à l'acétate d'éthyle, ce qui est utile

pour l'étude des mécanismes de dépolymérisation. Différentes plantes représentatives de la biomasse lignocellulosique d'intérêt agronomique et industriel pour la bioraffinerie (tiges de bois de peuplier, de maïs et de miscanthus), contenant des structures spécifiques de lignines, seront sélectionnées comme matières premières pour l'isolement des lignines afin d'étudier l'impact de la variabilité génétique de la lignine. Ces lignines natives seront représentatives des lignines issues de l'approche émergente de bioraffinerie « lignin-first » (cf. projet suivant).³³

➤ Sélection et fractionnement des lignines techniques : Différents co-produits provenant de procédés industriels ou pilotes seront testés. Nous allons valoriser d'une part les sous-produits de la production industrielle de pâtes et papiers (lignines Kraft et soude) avec l'avantage d'une disponibilité en grande quantité et d'une intégration dans les chaînes de valeur existantes, et d'autre part, les sous-produits générés par la bioraffinerie émergente de résidus agricoles (lignines organosolv). Comme précédemment, nous nous intéresserons à différentes matières premières, des matières premières agricoles (miscanthus et paille de blé) ou résineuses. L'objectif sera d'étudier l'influence de l'origine botanique (paille de blé versus autres résidus agricoles ou de bois) et du procédé de bioraffinage sur la composition globale et la réactivité des lignines. Des étapes de purification seront ajoutées (ou non) aux procédés décrits ci-dessus, en fonction de la polydispersité des différents échantillons de lignines, afin de séparer les petites molécules phénoliques extractibles des fractions oligomères (ou polymères). La présence ou l'absence de petits composés phénoliques dans une telle fraction nous permettra d'étudier l'influence des phénomènes de libération lorsqu'ils sont incorporés dans des polymères. Les fractions résultantes seront également entièrement caractérisées pour adapter leur pureté, leur profil de masse molaire et leurs groupes fonctionnels à la conversion catalytique ultérieure en biomolécules fonctionnelles.

b) Synthèse et caractérisation de POM et POM-LI contenant des anions polyoxotungstates et des cations tétraalkylphosphonium

L'objectif est de synthétiser, de caractériser et d'utiliser des liquides ioniques formés par association de polyoxométallates anioniques avec des cations organiques tels que les tétraalkylphosphoniums, appelés POM-LI. Les POM-LI seront conçus pour solubiliser les lignines et catalyser leur dépolymérisation oxydante afin d'obtenir des molécules phénoliques de type acides carboxyliques pour l'industrie. Le projet portera sur les dérivés du polyoxotungstate qui se sont révélés très prometteurs dans le cadre des travaux de thèse de Yohan Martinetto (2017-2020). En particulier, des POM de type Keggin $\{XW_{12}O_{40}\}^n$ (X=H₂, Si, B, P) ou dérivés de type Lindqvist $\{W_5MO_{19}\}^n$ (M= V, Nb, Mo), dont les synthèses à grande échelle sont bien maîtrisées et qui présentent les prérequis nécessaires en termes de charge et de taille pour former des liquides ioniques suffisamment fluides pour être utilisés en catalyse comme solvant. Les POM-LI obtenus seront caractérisés tant du point de vue de leur composition (FT-IR, ATG, et RMN multinucléaire (¹H, ¹¹B, ²⁹Si, ³¹P, ¹⁸³W)) que de leurs propriétés rhéologiques (point de fusion (DSC), viscosité, constante diélectrique, microscopie optique polarisée). Ces études seront complétées par des études FT-IR et des mesures RMN en solution et à l'état solide sur le substrat avant et après catalyse pour caractériser finement les produits de réaction et l'état du catalyseur. Une attention particulière sera portée à la séparation, la stabilité et la recyclabilité du système catalytique.

➤ Synthèse et caractérisation de POM-LI. La première tâche sera la synthèse et caractérisation (FTIR, EDX, RMN) des POM cibles mentionnés ci-dessus. Les POM-LI associant des POM à des cations tétraalkylphosphonium et trihexyltétradécylphosphonium seront préparés et purifiés. D'autres cations pourront également être testés, comme les cations porteurs de chaînes fluorées. Ces cations spécifiques pourraient favoriser la dissolution du dioxygène en alternative à l'utilisation de H₂O₂ pour les procédés catalytiques. Les POM-LI seront caractérisés par FT-IR, RMN multinucléaire, EDX, ESI-MS et ATG. Si nécessaire, les POM-LI seront purifiés par chromatographie d'exclusion stérique pour éliminer l'excès de sel de chlorure ou bromure de phosphonium.

➤ Propriétés physiques / rhéologiques des POM-LI. Des mesures des propriétés physiques et rhéologiques des POM-LI sont nécessaires pour étudier leurs potentialités en tant que solvant et catalyseur des résidus de lignines. Ces propriétés seront mesurées pour les POM-LI dès que leur pureté sera établie, grâce à des collaborateurs à Rennes (D. Morineau à l'IPR et F. Camerel à l'ISCR). Une fois les POM-LI parfaitement caractérisés, les systèmes seront utilisés dans des conditions « classiques » en présence de H₂O₂ ou en photocatalyse.

c) Tests catalytiques des POM-LI et études de la robustesse des catalyseurs.

Les POM-LI préparés seront d'abord testés dans diverses conditions expérimentales et comparés aux résultats précédemment obtenus en utilisant H₂O₂ et un chauffage conventionnel ou une irradiation aux micro-ondes. L'étude sera étendue aux dimères modèles de lignines et aux fractions oligomériques préparées pour optimiser le processus et mieux comprendre les fonctions clivées et oxydées. Pour aller plus loin, différentes sources de lignines seront solubilisées dans les POM-LI et des tests catalytiques seront menés en présence d'une phase aqueuse de H₂O₂. Les produits de dépolymérisation seront séparés de la phase POM-LI grâce à une méthode développée précédemment utilisant un gel d'exclusion stérique. Le recyclage des POM-LI est un défi important à relever, pour l'instant limité à quelques cycles. La robustesse et l'efficacité des catalyseurs POM-LI sélectionnés seront testés sur plusieurs cycles et analysés par FT-IR et RMN ¹⁸³W. L'identification des produits de dépolymérisation sera réalisée, notamment en RMN et GC-MS. Une attention particulière au rendement de dépolymérisation sera apportée, et surtout au rendement isolé des composés d'intérêt. Au cours de cette tâche, les conditions expérimentales seront également modifiées dans l'espoir d'observer des propriétés catalytiques significatives. L'utilisation de l'oxygène à la place du H₂O₂ sera envisagée et l'activation par photocatalyse sera testée. L'utilisation de POM-LI comprenant des chaînes fluorées sera testée dans ce cadre, les LI fluorées étant bien connus pour leur capacité de dissolution de l'oxygène. Enfin, les lignines (DL ou techniques) seront testées.

d) Caractérisation des produits

➤ Caractérisation des lignines de départ (DHP, lignines isolées au dioxane, lignines techniques) et des fractions. La caractérisation des différentes fractions visera à quantifier et à avoir accès aux paramètres les plus importants qui influencent la réactivité des lignines, à savoir la contamination par des polysaccharides ou des petits extractibles phénoliques, le degré de polymérisation moyen, le poids moléculaire moyen et la polydispersité, la composition en monomères, les liaisons intermonomères et la teneur en phénols libres. Les échantillons de lignines de départ seront soumis à une caractérisation de base en termes de composition (sucres résiduels, lignine Klason, analyse élémentaire et cendres), de groupes fonctionnels (RMN 2D HSQC, RMN ³¹P, FTIR) et de distribution de masse molaire par chromatographie d'exclusion stérique (HPSEC). Des dégradations analytiques chimiques (thioacidolyse, acidolyse, traitements alcalins doux) seront réalisées pour quantifier la teneur en liaison β-O-4 et les acides coumarique et férulique liés aux lignines. La GC-MS et la LC-MS seront réalisées pour quantifier le faible contenu en molécules phénoliques extractibles.

➤ Caractérisation des produits formés. Concernant les composés modèles, tous les intermédiaires seront entièrement caractérisés par des analyses RMN pour identifier les produits de réaction et l'efficacité des procédés catalytiques. Le criblage de l'efficacité du traitement sera effectué dans un premier temps en comparant les échantillons en termes de distribution de masse molaire (SEC) pour déterminer si le traitement libère des produits de faible masse molaire ou des produits de recondensation de masse molaire plus élevée. Des analyses de masse de routine (GC-MS et LC-MS) et spectrométrie de masse haute résolution seront également réalisées sur la plateforme Observatoire du Végétal Chimie/Métabolisme de l'IJPB. Une caractérisation minutieuse des lignines traitées sera également effectuée. La composition des lignines en fonction du temps sera mesurée afin de déterminer la quantité de lignines consommée lors de la conversion. La masse molaire des lignines sera analysée, pour déterminer les évolutions au cours de la conversion (une dépolymérisation et une repolymérisation peuvent être observées). Le contenu chimique et la structure des produits obtenus après traitement seront déterminés par thioacidolyse et RMN 2D HSQC et HMBC pour permettre une meilleure compréhension des mécanismes. Les groupes fonctionnels, hydroxyle libre, acide carboxylique et phénolique seront analysés par RMN ³¹P pour vérifier si une phénolation ou un clivage de liaison se produit. La GC-MS et la LC-MS seront réalisées pour quantifier le faible contenu en molécules phénoliques extractibles.

iv) Résultats attendus

Le projet propose d'utiliser les POM-LI en combinaison avec la photochimie (ou non) pour la valorisation des lignines. Cette technologie n'est actuellement pas ou peu utilisée directement sur les lignines en raison d'une connaissance insuffisante des mécanismes impliqués. Sur la base des exemples rapportés dans la littérature, la photochimie peut offrir de nouvelles stratégies et donner lieu à de nouveaux résultats concernant la valorisation des lignines. Ces recherches en photocatalyse avec les POM-LI devraient déboucher sur de nouveaux procédés

de valorisation des lignines. Cette nouvelle approche est justifiée par les avantages potentiels, tels que le procédé respectueux de l'environnement et la viabilité économique de la filière du bioéthanol 2G, car la valorisation des lignines en produits à haute valeur ajoutée peut améliorer la rentabilité et l'efficacité carbone de ces industries. Concernant les impacts scientifiques, la recherche de procédés verts d'oxydations sélectives produisant des aldéhydes et des acides carboxyliques représente un enjeu, au niveau académique et industriel pour la chimie fine, pour être plus efficace, plus éco-compatible et limiter l'utilisation de réactifs toxiques et la production de déchets.

Actuellement, le seul composé produit industriellement à partir de lignines est la vanilline (par la société norvégienne Borregaard à partir de lignosulfonates). Les acides carboxyliques issus de la dépolymérisation des lignines ont un fort potentiel, parmi eux par exemple : i) l'acide succinique pour former du bio-polybutylène succinate (bio-PBS), utilisé pour les emballages alimentaires ; ii) l'acide glycolique pour la synthèse d'acide polyglycolique (PGA) comme substitut robuste de l'acide polylactique (PLA), et iii) les acides carboxyliques phénoliques aromatiques pour la formation de polyesters aromatiques comme substituts du polyéthylène téréphtalate (PET).³⁴ Le procédé étudié représente une approche innovante. Concernant l'impact sociétal, de nos jours, les consommateurs sont de plus en plus soucieux de la qualité des ingrédients et des procédés de fabrication de leurs produits. Le marché des produits « bio » ou « naturels » est en effet en plein essor. Par conséquent, ce projet pourrait satisfaire la demande sociétale en produits chimiques biosourcés sûrs à faible impact environnemental.

5.3.3 Axe « Fractionnement des lignocelluloses, bioraffinerie flexible : lignin-first »

Ce projet de recherche est complémentaire du projet précédent. Il s'agit principalement ici du projet de Thèse d'Adithya Raveendran Thottathil (co-encadrement de la thèse SPS dirigée par S. Baumberger) qui débute et qui consiste à étudier la variabilité inter- et intra-espèces des matières premières végétales locales. Il vise à explorer le potentiel de valorisation des lignines de différentes ressources végétales étudiées à l'IJPB, afin de contribuer au développement de bioraffineries durables « lignin-first ». L'originalité est d'exploiter la variabilité intra et inter-espèces des plantes pour concevoir un procédé flexible de fractionnement de la lignocellulose, capable de libérer des molécules phénoliques d'intérêt à partir de différentes biomasses. Le travail consiste à : i) caractériser les différentes matières premières lignocellulosiques en termes de teneur en lignines et leur structure, ii) concevoir et mettre en œuvre à l'échelle du laboratoire un procédé de fractionnement piloté par les principes de la chimie verte, iii) effectuer une évaluation multicritère du procédé basée sur les rendements obtenus, la variabilité et les fonctionnalités des fractions phénoliques, les critères techno-économiques et environnementaux. Ce projet apportera de nouvelles connaissances sur les ressources végétales présentant un intérêt agronomique, environnemental et industriel. Il contribuera au développement de bioraffineries intégrées qui reposeront sur la mise en œuvre de procédés éco-responsables et la valorisation de tous les composés, mais aussi sur l'utilisation des ressources végétales conjuguant faible demande en intrants et adaptation au changement climatique.

i) Contexte

Ce projet répond à un enjeu environnemental global, la réduction des émissions de CO₂ dans le contexte du changement climatique. Une solution pour réduire les émissions de CO₂ tout en atténuant l'épuisement des ressources est l'utilisation du carbone renouvelable issu des plantes en remplacement des énergies et molécules à base de pétrole. Dans ce but, les bioraffineries convertissent la biomasse en molécules biosourcées d'intérêt pour les industries. La conversion efficace des fractions saccharidiques et lipidiques de la biomasse par les bioraffineries de 1^{ère} génération entre directement en concurrence avec l'approvisionnement alimentaire, c'est pourquoi les bioraffineries de 2^{ème} génération (2G) ont émergé, visant à fractionner et valoriser la biomasse lignocellulosique issue des résidus forestiers et agricoles. Ces bioraffineries 2G visent en premier lieu la valorisation de la cellulose et des hémicelluloses, constituant la majeure partie de la biomasse lignocellulosique, ce qui nécessite de séparer ces polysaccharides des lignines. Les procédés industriels actuels de délignification mettent en œuvre des températures élevées (130-180°C) et des conditions de pH extrêmes (inférieurs à 5 ou supérieurs à 12) permettant la dépolymérisation et la solubilisation des lignines. Si de tels procédés fournissent

un moyen efficace d'isoler la pâte cellulosique, ils génèrent une certaine modification de la structure des lignines, comme la formation de nouvelles liaisons carbone-carbone et la repolymérisation des lignines qui en résultent.³⁵ De telles modifications augmentent l'hétérogénéité moléculaire des lignines et altèrent leurs propriétés et leur réactivité chimique, limitant ainsi leur utilisation actuelle à des utilisations de faible valeur comme la production d'énergie par combustion ou l'utilisation comme additif dans le béton par exemple.

En tant que polymères phénoliques, les lignines sont des biomolécules multifonctionnelles jouant un rôle clé de protection des plantes, tout en offrant un large éventail d'applications potentielles, notamment en tant qu'agents anti-oxydants, anti-UV et antimicrobiens pour les plastiques et les formulations cosmétiques.³⁶ De plus, la variabilité naturelle des lignines dans les parois cellulaires végétales génère une grande diversité de structures phénoliques qui pourraient être préservées et exploitées pour produire des biomolécules fonctionnelles sur mesure, d'intérêt pour l'industrie. Parmi les principaux facteurs de variabilité figurent l'espèce végétale, la localisation tissulaire des lignines dans la plante et les conditions environnementales. Comprendre l'impact de la variabilité structurale des lignines sur leurs fonctionnalités est nécessaire pour développer une approche de bioraffinerie axée sur les lignines, prenant en compte la qualité et la valorisation des lignines et répondant aux spécifications des utilisateurs finaux.³⁷

Dans ce contexte, comme je vous ai montré précédemment, l'équipe a développé des stratégies analytiques et des procédés de dépolymérisation sélectifs pour étudier la variabilité de la structure et de la réactivité des lignines issues de plantes et de divers produits forestiers, agricoles et industriels. Cette expertise a été utile pour plusieurs projets collaboratifs à partir desquels des connaissances sur les relations structures-propriétés des lignines ont été acquises et de nouvelles voies de fonctionnalisation des lignines ont émergé. Cependant, la plupart des travaux de l'équipe ont été réalisés sur des lignines industrielles récupérées de bioraffineries ciblant la valorisation de polysaccharides et la possibilité d'utiliser de nouvelles cultures résistantes au changement climatique n'a pas été explorée.

L'IJPB et les autres membres du réseau Saclay Plant Science développent et exploitent de nouvelles ressources végétales adaptées aux contraintes environnementales et aux exigences des industries alimentaires, non alimentaires et fourragères. Grâce à un réseau d'unités expérimentales, des plantes cultivées sous différents stress biotiques et abiotiques, et/ou après des modifications génétiques, sont produites. Bien que la lignification soit connue pour être affectée par ces modifications, on sait peu de choses sur le potentiel de valorisation des lignines que ces plantes contiennent. Le projet présenté ici vise à explorer le potentiel des lignines de diverses ressources végétales étudiées à l'IJPB afin de contribuer au développement de bioraffineries durables axées sur les lignines comme cible principale. Outre les conditions de culture des plantes et les procédés de conversion de la biomasse, l'approvisionnement en matières premières est un critère primordial régissant la durabilité d'une bioraffinerie. Si une bioraffinerie est conçue pour traiter une seule biomasse, cela peut générer plusieurs inconvénients/problèmes, comme la dépendance à une entrée unique, un calendrier opérationnel fixé par les périodes de récolte, ou la poussée de l'agriculture monovariétale, mettant ainsi en péril la biodiversité. Pour ces raisons, l'une des préoccupations importantes du projet est la flexibilité des stratégies de fractionnement proposées qui devraient être applicables à diverses biomasses, et idéalement à des mélanges. Cette approche globale vise à soutenir le développement de bioraffineries viables, ouvrant de nouveaux marchés en aval par la valorisation de la plante entière y compris les lignines, capables de convertir la biomasse entrante polyvalente et de soutenir la diversité de l'agroéconomie locale.

ii) Objectifs

Les objectifs du projet seront : 1) d'acquérir des connaissances sur les fonctionnalités (structures et propriétés) des lignines de ressources végétales alliant intérêt agronomique ou industriel et résilience aux changements climatiques et 2) d'explorer la possibilité d'utiliser ces ressources comme matières premières pour une bioraffinerie de plantes entières. L'ensemble du projet sera guidé par la nécessité d'assurer la pérennité de la bioraffinerie, de la plante aux produits. Contrairement à la plupart de mes projets précédents, ce projet ne partira pas des déchets industriels riches en lignines existants mais de l'exploration des lignines natives dans les plantes.

Le projet comprendra trois parties principales :

- *La caractérisation de matériels végétaux sélectionnés disponibles auprès des membres et partenaires de l'IJPB, en termes de composition de la paroi cellulaire et de structures des lignines* : l'objectif de la première étape sera de compléter la connaissance de la composition du matériel végétal par la connaissance des structures phénoliques et d'orienter le choix des conditions de transformation. Le projet portera sur les biomasses produites

en Île-de-France afin de soutenir une bioéconomie circulaire locale. Ces sources différeront par leurs volumes de production (importants, émergents ou potentiels) et leur composition et seront sélectionnées en fonction de leur intérêt agronomique et industriel démontré par des projets antérieurs ou en cours.

- La conception d'un schéma de fractionnement de la biomasse applicable à l'échelle du laboratoire à toutes les matières premières et susceptible de générer des composés phénoliques fonctionnels d'intérêt : la deuxième étape sera le cœur du projet et nécessitera quelques optimisations. Un large éventail de procédés sont décrits dans la littérature pour la transformation de la biomasse lignocellulosique et la conversion des lignines en molécules ou fractions de valeur.³⁸ Ces procédés se différencient par la sévérité des conditions (T°C, pH), le type et le degré de modification des lignines, et leurs performances.³⁹ Dans ce projet, l'objectif est de concevoir un procédé de fractionnement/dépolymérisation de la biomasse limitant la recondensation des lignines (Figure 26).

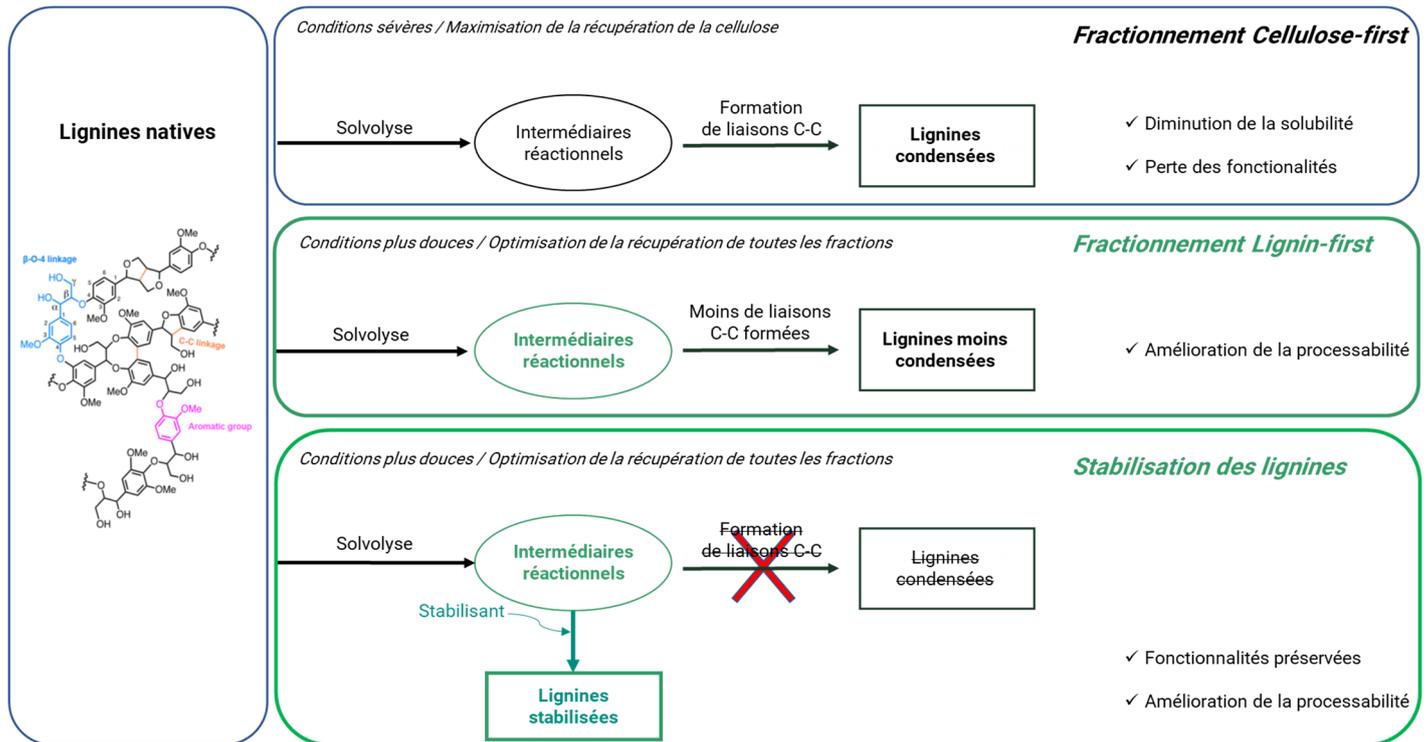


Figure 26. Différents procédés de fractionnement et impact sur les propriétés des lignines obtenues, les procédés choisis pour ce projet sont encadrés en vert.

Les critères de chimie verte et l'adaptabilité du procédé à des biomasses variables conditionneront en premier lieu le choix de la voie de transformation, plutôt que les exigences des utilisateurs finaux industriels. Cette approche représente une seconde originalité par rapport aux projets précédents et devrait être source d'innovation. En effet, l'application de procédés doux à différentes biomasses inhabituelles pourrait fournir des structures phénoliques inattendues d'intérêt potentiel, par exemple des assemblages glucides-phénol qui sont généralement dégradés par les procédés de délignification. Les procédés impliquant des milieux innovants respectueux de l'environnement, et des conditions plus douces, en termes de température et de pH, que les procédés actuels de délignification (Kraft, sulfite) seront privilégiés. Nous explorerons aussi l'utilisation d'additifs (stabilisants) capables de réagir avec les espèces réactives intermédiaires responsables des phénomènes de recondensation. De plus, pour répondre aux exigences de durabilité, tant environnementales qu'économiques, des milieux recyclables, générant le moins de déchets possible, seront utilisés.

- La caractérisation des différentes fractions en termes de composition et de fonctionnalités : l'objectif de la troisième étape sera à la fois de comprendre les changements moléculaires subis par les lignines, en comparaison aux structures phénoliques natives, et d'évaluer le potentiel de valorisation des biomolécules produites, selon

des fonctionnalités clés connues pour conditionner des applications de plus forte valeur ajoutée (ex. teneur en phénols et capacité de piégeage des radicaux, solubilité dans les solvants écologiques, propriétés tensioactives).

iii) *Méthodologie/stratégie*

Le projet implique une approche pluridisciplinaire associant sciences du végétal, chimie des lignines, génie des procédés et sciences de l'environnement. Il exploite les ressources végétales, les méthodes et les installations de caractérisation des parois cellulaires disponibles à l'IJPB dans le cadre des projets en cours.

a) Sélection des matières premières

Trois types différents de matières premières ont déjà été identifiés pour la thèse d'Adithya. Pour chaque matière première, des échantillons lignocellulosiques issus de projets antérieurs ou en cours seront utilisés, afin d'exploiter les données existantes et de mener une approche intégrée alliant problématiques agronomiques et industrielles. Elle n'exclut pas l'utilisation d'autres matériaux lignocellulosiques afin de tester la robustesse du procédé.

➤ *Paille de maïs* : Le maïs est la deuxième céréale la plus abondante cultivée en France (3,1 millions d'ha) et son utilisation pour l'alimentation humaine et animale génère 5 à 6 t. de matière sèche.ha⁻¹, ce qui représente un résidu lignocellulosique d'intérêt pour les bioraffineries.⁴⁰ Dans le contexte du changement climatique, l'équipe Qualibiose (IJPB) dirigée par Matthieu Reymond étudie l'effet combiné des génotypes et du déficit hydrique sur la qualité de la biomasse lignocellulosique du maïs. Les projets collaboratifs de l'équipe génèrent une large gamme de matériels végétaux illustrant la variabilité intra-espèces en termes de résistance à la sécheresse, de composition et de digestibilité. Trois échantillons présentant des caractéristiques distinctes ont été sélectionnés pour la thèse de doctorat et fournis sous forme de résidus lignocellulosiques secs.

➤ *Miscanthus* : Le miscanthus est une culture émergente à vocation non alimentaire qui suscite un intérêt croissant en raison de sa productivité élevée (10-40 t.ha⁻¹) et de sa faible empreinte environnementale par rapport aux autres cultures. Cette graminée vivace a notamment l'avantage d'être implantée une seule fois pendant 20-25 ans, dans des sols variés, et elle ne demande pas beaucoup d'entretien ni d'intrants et résiste à la sécheresse. Différents échantillons de paille lignocellulosique précédemment produits et caractérisés dans le cadre du projet « Biomasse pour le futur » coordonné par Herman Hofte (équipe PAR, IJPB) seront utilisés pour le projet.

➤ *Caméline* : La caméline est une culture d'oléagineux d'intérêt industriel en raison de sa forte teneur en huile en acides gras insaturés à longue chaîne inhabituels et en tocophérols, susceptible d'offrir des applications dans l'alimentation et la cosmétique.⁴¹ De nouvelles espèces à rendement accru, adaptées au climat européen et moins exigeantes en intrants, comme *Camelina sativa*, ont été développées et sont étudiées à l'IJPB par l'équipe DIPOL. L'exploitation de la caméline pour la production d'huile génère deux types de résidus lignocellulosiques : les tiges et le tourteau, principalement utilisés pour l'alimentation animale. Les tiges et tourteaux de caméline seront fournis par Jean-Denis Faure (DIPOL, IJPB).

b) Caractérisation des matières premières

Les matériaux lignocellulosiques (tiges broyées) feront l'objet d'une caractérisation complète, selon les stratégies analytiques mises en place à l'IJPB pour l'étude des parois végétales ou des produits industriels lignocellulosiques. Une première série d'analyses sera effectuée pour obtenir des informations sur la composition générale du matériau : analyse des extraits phénoliques par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS), analyse des glucides par chromatographie ionique, analyse de la composition en acides gras par transméthylation suivie de GC-MS, analyses des cendres et des lignines par des méthodes gravimétriques. Ces analyses seront complétées par une investigation approfondie de la structure des lignines, *in situ* et après isolement des lignines par les procédés utilisant la soude et organosolv dioxane/HCl. Les types de liaisons des lignines et la composition en monomères seront évalués par thioacidolyse (*in situ* et sur les lignines isolées), tandis que les groupes fonctionnels et les structures spécifiques seront analysés par RMN (¹H-¹³C 2D et ³¹P) et spectrophotométrie infrarouge.

c) Comparaison des comportements des matières premières dans différents procédés de fractionnement

Afin d'évaluer le potentiel de valorisation des lignines des différentes biomasses et de concevoir un procédé flexible, les matières premières seront soumises à différents traitements susceptibles de générer des fractions phénoliques d'intérêt : i) un traitement organosolv⁴², combinant plusieurs avantages comme la conservation de la plupart des caractéristiques structurales des lignines natives, en particulier une forte proportion de liaisons éther, et présentant un faible degré de contamination par les glucides⁴³; ii) un fractionnement assisté par un « stabilisant », aldéhyde⁴⁴ ou diol⁴⁵, pour protéger les lignines et les sucres C5 de la formation d'intermédiaires réactifs, évitant ainsi une condensation supplémentaire en produits indésirables (lignines condensées, humines...) ; iii) un fractionnement par des solvants eutectiques profonds (en anglais Deep Eutectic Solvents, DES).⁴⁶ En effet les DES sont apparus comme des alternatives aux solvants organiques conventionnels et sont d'excellents candidats pour l'incorporation de fonctions supplémentaires, par exemple la « fonction de stabilisation », très recherchée dans le bioraffinage.⁴⁷ Les DES fondent à une température suffisamment basse pour permettre de fabriquer de nouveaux liquides économiquement accessibles qui pourront servir comme nouveaux solvants. En quelques mots, les DES sont des solvants formés par le mélange entre deux ou plusieurs composés en proportion exacte. Ce mélange se comporte comme un corps pur et la plupart de ces solvants sont liquides à température ambiante, ce qui facilite leur utilisation. La synthèse des DES est facile et propre comparativement à celle des liquides ioniques qui ont besoin de plusieurs étapes de synthèses chimiques et de purifications. Il s'agit d'un couple composé d'un donneur de liaison hydrogène et d'un accepteur de cette liaison simplement mélangés en bonne proportion et chauffés, jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène et transparent. Les solvants eutectiques profonds (DES) sont considérés comme une classe émergente de solvants verts liés aux liquides ioniques.⁴⁸

Les conditions de chaque traitement seront fixées à partir de la matière première de référence avant application à l'ensemble des matières premières. Les fractions résultantes (extraits et résidus) seront analysées pour leur teneur en lignines et leur structure (répartition des masses molaires, schéma de liaison et groupes fonctionnels). Ces analyses permettront d'évaluer l'efficacité du fractionnement, en termes de rendement et de pureté d'isolement des lignines, mais aussi d'étudier l'effet combiné de la matière première et du procédé sur la réactivité des lignines. Sur la base des résultats, une combinaison des différentes technologies sera proposée et provisoirement appliquée à un mélange de matières premières pour évaluer sa robustesse.

d) Évaluation du potentiel de valorisation des lignines

Les fractions phénoliques contenant des lignines et éventuellement des extraits phénoliques de faible masse molaire seront évaluées pour leurs propriétés antioxydantes. De plus, pour déterminer la formulabilité de la fraction, sa solubilité dans certains solvants à faible toxicité (acétate d'éthyle, éthanol, acétone) sera évaluée. Selon leurs propriétés, de telles fractions pourraient trouver une application soit dans des formules cosmétiques, soit dans des matériaux polymères (projet ANR *BioMatMix* déposé pour la formulation de polystyrènes biosourcés). La composition des fractions et la structure des composés phénoliques seront prises en compte pour identifier d'autres applications potentielles basées sur la littérature et les demandes connues du marché.

iv) Résultats attendus

Ce projet apportera de nouvelles connaissances sur les matières premières végétales d'intérêt agronomique, environnemental et industriel. Il permettra d'établir des relations entre le génotype végétal et les conditions de croissance, la structure et la transformabilité des lignines, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives liées à la valorisation des lignines des projets en cours menés au sein du réseau SPS. Il contribuera au développement de bioraffineries intégrées reposant non seulement sur la mise en œuvre de procédés éco-responsables et la valorisation de tous les composants des plantes, mais aussi sur l'utilisation des ressources végétales conjuguant faible demande en intrants et adaptation au changement climatique. La mise en œuvre de technologies innovantes de fractionnement de matières premières inhabituelles devrait générer des échantillons représentatifs de nouveaux types de lignines de bioraffinerie d'intérêt potentiel pour l'industrie.

5.3.4 Axe « Compréhension de la mise en place de la paroi cellulaire végétale, Synthèse d'analogues de monolignols et de sucres compatibles pour la chimie click »

Comprendre les mécanismes de formation des parois végétales, les étapes de biosynthèse des composés pariétaux (lignines, sucres) et les réarrangements des parois au cours du temps, peut nous aider à les transformer. C'est pourquoi j'ai décidé de m'orienter vers ce nouvel axe de recherche fondamentale en proposant notamment de développer des stratégies de visualisation des parois cellulaires végétales. Ce projet sera réalisé en collaboration avec l'équipe « Glycanes et Signalisation » (IJPB, A. Voxeur et S. Vernhettes) et l'équipe « Matériaux moléculaires : conception, design et application » (ILV, E. Allard, H. Fensterbank, K. Wright). Je prévois d'accueillir des étudiants du Master Chimie de la graduate School de Chimie Paris-Saclay qui reçoivent une formation spécifique sur la chimie click. Ce projet englobe le développement d'approches synthétiques, ainsi que la caractérisation de dérivés saccharidiques ou analogues de monolignols.

i) Contexte

Les parois cellulaires végétales, qui entourent les cellules et définissent la forme des organes au cours du développement, sont des structures hautement dynamiques et complexes sur le plan de leur diverses compositions et architectures (Figure 6).⁴⁹ Leurs principaux constituants, qui comprennent la cellulose, les hémicelluloses, les pectines, les lignines et les protéines structurales, sont synthétisés et délivrés dans la paroi cellulaire par divers mécanismes. La cellulose est synthétisée au niveau de la membrane plasmique par le complexe cellulose synthase ; les hémicelluloses, les pectines et les protéines de la paroi sont synthétisées intracellulairement et sécrétées par les vésicules. Quant aux lignines, elles seraient polymérisées dans la paroi à partir des monolignols qui sont produits dans le cytoplasme à partir de la phénylalanine.⁵⁰ Malgré de nombreuses analyses biochimiques et génétiques, plusieurs détails subcellulaires de la biosynthèse et de la dynamique de la paroi cellulaire restent énigmatiques. Pourquoi ? A l'échelle cellulaire, pour explorer la chimie de la paroi cellulaire, l'utilisation de colorants spécifiques ou de sondes moléculaires sur des matériaux végétaux est nécessaire. Les technologies basées sur la fluorescence ont permis d'étudier de manière non invasive la localisation, la distribution, le trafic et l'activité des protéines impliquées dans la synthèse des polymères pariétaux. Cependant la visualisation directe des polymères pariétaux est difficile : i) la faible porosité des parois rend l'incorporation des molécules difficile et restrictive ; ii) le marquage est difficile car l'expertise n'est pas répandue dans les laboratoires ; iii) il n'y a pas forcément de colorant spécifique disponible pour chaque polysaccharide ; iv) les colorants sont souvent toxiques et ne permettent pas d'observer la dynamique des parois. L'imagerie ne peut donc se faire qu'avec des approches alternatives. L'utilisation de la chimie click pour étudier l'architecture de la paroi cellulaire des plantes devrait aider à répondre à plusieurs questions encore en suspens, que ce soit pour comprendre le transport des monolignols, ou comprendre les mécanismes moléculaires et physiologiques responsables des propriétés et des fonctions de la paroi cellulaire.⁵¹ La chimie click est une classe de réactions chimiques utilisées pour joindre à un substrat choisi une biomolécule spécifique.

Sur le vivant, la chimie click doit être hautement sélective et bio-compatible (bio-orthogonale) pour permettre la réalisation de réactions non naturelles à l'échelle cellulaire voire *in vivo* (Figure 27).⁵² Elle doit entraîner un minimum d'effets sur les biomolécules et processus biochimiques et doit répondre à plusieurs critères nécessaires: i) les réactions doivent se produire aux températures et au pH des environnements physiologiques ; ii) elles doivent fournir des produits de manière sélective et à haut rendement sans être affectées par les autres composants présents ; iii) elles doivent être rapides, même à faible concentration, en formant des produits de réaction stables ; iv) elles doivent impliquer des groupes fonctionnels qui ne sont pas naturellement présents dans les systèmes biologiques.

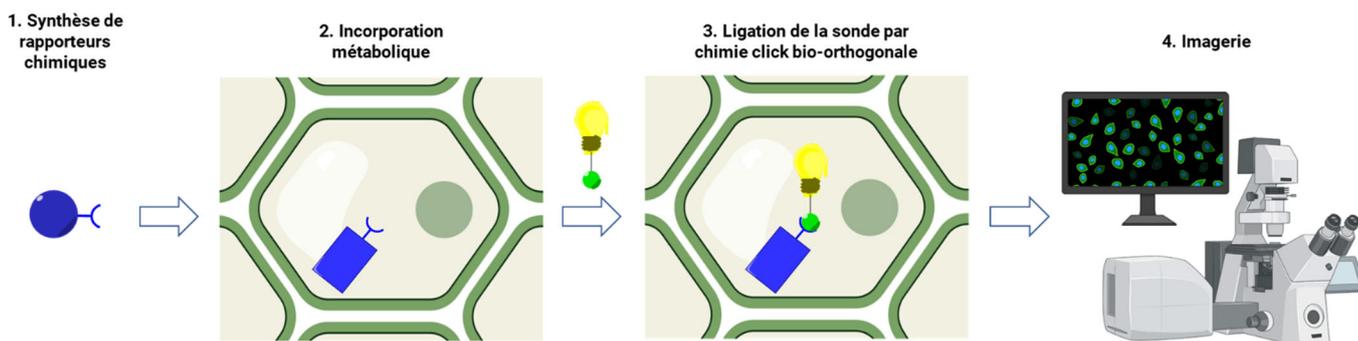


Figure 27. Principe de la chimie bio-orthogonale : la technique consiste à incorporer via les voies métaboliques naturelles un analogue synthétique de la molécule d'intérêt modifié avec un groupement bio-orthogonal que l'on appelle « rapporteur » chimique, puis de faire réagir ce groupement avec un fluorophore appelé « sonde », comportant une fonction chimique bio-orthogonale complémentaire.

Peu de réactions chimiques peuvent être réellement considérées comme bio-orthogonales, et très peu d'entre elles ont pu être utilisées pour réaliser des réactions chimiques non naturelles au sein d'un organisme vivant. Ces réactions click sont en grande majorité des cycloadditions, comme la cycloaddition azide-alcyne catalysée par le cuivre (CuAAC : *copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition*), ou la cycloaddition [3+2] sans cuivre des azotures avec les cyclooctynes (réaction SPAAC : *strain-promoted alkyne-azide cycloaddition*), ou les réactions de Diels-Alder à demande électronique inverse (DAinv) (Figure 28 ci-dessous).⁵³ L'utilisation de rapporteurs chimiques présente des avantages évidents en termes de structures compactes et inertes ainsi que la flexibilité de l'imagerie car ils peuvent être attachés à une variété de sondes fluorescentes.

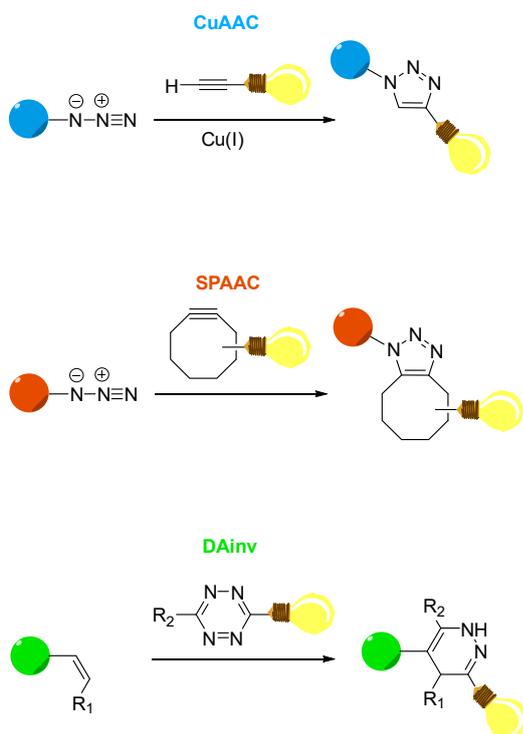


Figure 28. Principales réactions de cycloaddition bio-orthogonales.

Malgré la popularité de cette méthode dans les cellules bactériennes et animales, elle est encore très peu utilisée en biologie végétale.⁵⁴ Les polysaccharides ou les lignines représentent des cibles de choix pour des applications en biologie végétale. On trouve seulement quelques exemples de développement de rapporteurs chimiques pour le marquage de cellules végétales, pour cibler des sucres ou des monolignols.⁵⁵ L'équipe d'Anderson a utilisé la CuAAC (« copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition ») pour visualiser l'incorporation métabolique d'un

analogue du fucose dans un polysaccharide présent dans les parois végétales de plantules d'*Arabidopsis thaliana*⁵⁶ et pour visualiser l'incorporation spécifique d'un analogue du 3-deoxy-D-manno-oct-2-ulosonic acid (Kdo)⁵⁷, ils ont montré que les rapporteurs chimiques étaient principalement incorporés dans la pectine, plus précisément dans les chaînes rhamnogalacturonane I pour le fucose et les chaînes rhamnogalacturonane II pour le Kdo. Les expériences d'ingénierie métabolique réalisées ces dernières années chez les végétaux ont permis d'étendre la gamme de rapporteurs mimant des monosaccharides disponibles pour l'étude de la régulation de la biosynthèse des glycanes. La stratégie du rapporteur chimique s'est également révélée une méthode pertinente pour visualiser les lignines biosynthétisées. Les équipes de Ralph⁵⁸, de Zhu⁵⁹ et le groupe de Biot⁶⁰ ont publié l'utilisation d'analogues de monolignols (Figure 29) afin de visualiser spécifiquement les zones actives de lignification des parois végétales et comprendre les stades de développement de la plante.

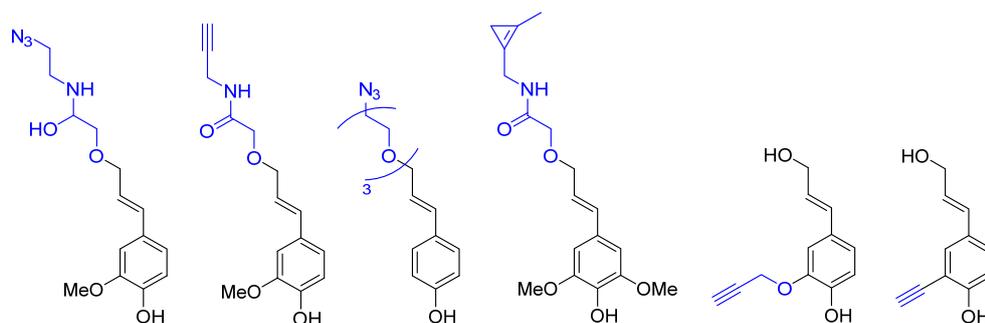


Figure 29. Analogues de monolignols existants, synthétisés par les équipes de Ralph, Zhu et Biot.

Cette stratégie peut donc être applicable à différents systèmes expérimentaux (sections végétales ou tiges entières) et transposable à d'autres espèces végétales (tabac, peuplier ou *A. thaliana*). Cependant, beaucoup des travaux cités précédemment utilisent des cycloadditions catalysées par le cuivre, qui sont toxiques pour les cellules et la détection simultanée des deux polymères pariétaux (lignines et polysaccharides non cellulotiques) n'a été que très peu étudiée jusqu'à maintenant. Au cours de la croissance, les parois, en particulier les polysaccharides de la paroi cellulaire primaire (les pectines), sont continuellement remodelées. Les pectines sont la classe la plus complexe de polysaccharides dans la paroi cellulaire végétale et sont composées de trois blocs principaux : les homogalacturonanes, les rhamnogalacturonanes I et II (RG-I et RG-II). L'impact des modifications de la pectine sur la lignification a été peu étudié jusqu'à présent. Dans certains tissus spécifiques tels que les vaisseaux conducteurs d'eau et les fibres structurellement importantes, l'arrêt de la croissance coïncide avec le dépôt d'une forte concentration de lignines, la lignification commence dans la paroi cellulaire primaire et se poursuit pendant la formation de la paroi cellulaire secondaire. De plus, outre leur rôle dans le développement des plantes, les lignines sont impliquées dans la réponse à divers stress biotiques et abiotiques et jouent ainsi une fonction importante dans l'adaptation des plantes à leur environnement.⁶¹

ii) Objectifs

Ce projet englobe le développement d'approches synthétiques éco-respectueuses, ainsi que la caractérisation de dérivés saccharidiques ou analogues de monolignols. Il permettra d'étudier les voies de biosynthèse de ces molécules dans les plantes, de comprendre le remodelage des parois au cours du temps et d'améliorer les outils qui permettent de les caractériser.

Dans un premier temps, le projet permettra la génération de cartes de localisation des lignines et des sucres dans les parois cellulaires d'*Arabidopsis thaliana* (de type sauvage et mutants pour la synthèse, le dépôt ou l'organisation spatiale des composés pariétaux) par microscopie confocale de fluorescence et fournira des informations spatiales précises sur la présence ou l'absence de ces composés. Dans un second temps, comme les cellules restent vivantes pendant tout le processus, la technique de chimie click pourra être utilisée pour étudier différents traitements des parois végétales (chimique ou enzymatique, carence en nutriments, stress chaud ou froid ...). L'idée est de comprendre les mécanismes de régulation sous-jacents à la biosynthèse des lignines et des sucres en réponse aux stress biotiques et abiotiques en utilisant la stratégie des rapporteurs chimiques, en marquant simultanément ou non les monolignols et les sucres. En effet, les différents constituants

de la paroi végétale (polysaccharides, lignines) interagissent entre eux et peuvent être clivés au cours du développement et lors de stress. Certains d'entre eux possèdent des activités biologiques comme la stimulation des mécanismes de défense ou de la croissance. Les questions biologiques soulevées sont les suivantes : i) Quels sont les acteurs impliqués dans la production des sucres et des lignines ? ii) Quels sont les rôles biologiques de ces molécules au cours de la vie de la plante ? iii) Quelles sont les voies de régulation mises en jeu dans le contrôle de la production des oligosaccharides et des lignines et leur signification pour l'adaptation des plantes ?

iii) Méthodologie/ stratégie

Comme dit précédemment, en chimie bio-orthogonale, il y a certaines limitations à prendre en compte : i) la restriction aux tissus capables d'incorporer efficacement les rapporteurs et les sondes fluorescentes ; ii) le manque de sélectivité ; iii) la compatibilité avec les processus étudiés ; iv) la toxicité de la réaction click pour les cellules végétales (si utilisation du cuivre).

a) Synthèse des rapporteurs chimiques

Il existe des limites à l'obtention de monolignols marqués, en particulier parce que le fluorophore doit être soigneusement conçu pour ne pas affecter ou être affecté dans le processus de lignification. Si l'étiquette fluorescente est trop volumineuse et hydrophobe, elle peut limiter la capacité de la sonde à imiter avec précision les propriétés d'un monolignol naturel. Comme dit précédemment, il existe déjà plusieurs analogues de monolignols dans la littérature, ils sont représentés dans la Figure 12.

Cependant aucune étude précise n'a été effectuée pour comprendre dans quelle position il était plus intéressant de marquer les monolignols pour que la lignification soit le moins affectée. Plusieurs analogues de monolignols seront synthétisés dans ce projet, portant des groupements azides ou alcynes. L'incorporation des groupements sera effectuée en position allyle, ou en remplacement d'un groupe méthoxyle ou en position 5 pour étudier la compatibilité et l'impact de la position du marquage sur le processus de lignification. Ces groupements incorporeront des chaînes polyéthylène glycol (PEG) pour augmenter la solubilité des analogues dans le milieu de culture. Pour observer la colocalisation avec les sucres, notamment les pectines dans la lamelle moyenne, nous synthétiserons également des analogues des sucres et utiliserons les synthèses rapportées dans la littérature et qui ont montré leur efficacité concernant le fucose et le 3-deoxy-D-manno-oct-2-ulosonic acid (Kdo) (Figure 30).

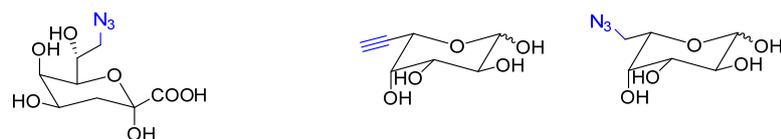


Figure 30. Analogues du Kdo et du fucose.

b) Synthèse des fluorophores

Il existe de nombreux fluorophores, la plupart des fluorophores utilisés jusqu'à maintenant sont commerciaux (nitrobenzo-alkyne, nitrobenzo-azide, Alexa 594-azide, Alexa 488-azide, Alexa 488-alkyne, azide-fluor 545, NBD-BCN, Fluor 488-DBCO, DBCO-PEG4-rhodamine green, tetrazine Cy5 magenta). Nous nous focaliserons dans un premier temps sur l'utilisation de sondes fluorescentes à base de 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene BODIPY. Les BODIPYs présentent les avantages suivants: i) une grande stabilité, ii) des propriétés modulables selon les substituants, iii) une solubilité dans l'eau après modification (possibilité d'addition de chaînes polyéthylène glycol PEG), iv) la possibilité d'obtention de plusieurs structures moléculaires avec diverses signatures photophysiques.⁶² Il est ainsi possible de travailler à des longueurs d'onde d'émission éloignées de celles de l'autofluorescence de la lignine dont nous devons tenir compte, plutôt vers le proche IR.⁶³ Je prévois pour cette partie du projet de travailler en collaboration avec l'équipe « Matériaux moléculaires : conception, design et application » de l'ILV (E. Allard, H. Fensterbank, K. Wright) qui synthétisera les BODIPY à façon, substitués par un groupement azide ou alcyne en fonction du polymère à cliquer.⁶⁴

c) Tests *in vitro* de compatibilité

- Tests de compatibilité des marqueurs avec la lignification : Il est important de déterminer si les analogues de monolignols synthétisés sont compatibles avec la lignification, c'est-à-dire s'ils peuvent participer à l'oxydation enzymatique puis au couplage radicalaire. Dans un premier temps, la formation de polymères déhydrogénés (ou DHP, cf. page 28) sera testée *in vitro* avec les analogues et la composition de ces nouvelles lignines de synthèse sera déterminée.
- Tests de réactivité click avec les analogues de monolignols : Des tests de réaction SPAAC seront effectués sur les analogues de monolignols. Le suivi des réactions sera réalisé par HPLC et permettra de définir le temps nécessaire pour la conversion totale des analogues. La caractérisation des triazoles formés sera réalisée par RMN 2D HSQC. Les différents analogues seront testés.
- Évaluation de la toxicité des analogues : avant tout, il est important de confirmer l'absence de toxicité des analogues synthétisés sur des semis d'*Arabidopsis* vivants. L'évaluation sera réalisée *in vitro*, dans des tubes à essai, après incubation de tiges en développement avec le milieu, seul ou contenant des concentrations connues en analogue à tester. Après croissance de la plante, la hauteur des plantes et le nombre de feuilles seront mesurées avant et après incubation.

d) Incorporation *in vivo*, étiquetage *in planta*, imagerie

Cette partie du projet sera réalisée avec l'équipe « Glycanes et Signalisation » (IJPB, A. Voxeur et S. Vernhettes). Pour accéder à la dynamique *in vivo* des parois, décrire les impacts des mutations sur l'assemblage macromoléculaire des parois et le rôle des différents polymères dans la cohésion du composite cellulose-hémicelluloses-lignines, nous étudierons les systèmes décrits ci-après.

- Le modèle sauvage d'*Arabidopsis thaliana* (At) pour avoir un contrôle et localiser les lignines et les sucres dans les parois cellulaires ;

Plusieurs mutants de la plante modèle *Arabidopsis thaliana* seront utilisés. Un mutant est une entité biologique qui a subi un changement dans sa structure génétique. Ici, nous utiliserons des mutants d'*Arabidopsis thaliana* affectés au niveau des gènes codant la protéine CCR1 (biosynthèse des monolignols)⁶⁵, FERONIA (croissance, reproduction et défense de la plante)⁶⁶ ou MUR (biosynthèse des polysaccharides pariétaux)⁶⁷.

- Un mutant *mur1* : Ce mutant est affecté dans la biosynthèse du GDP-L-fucose, présentant un phénotype nain attribué à une incapacité du RG-II à se dimériser.⁶⁸ Une étude plus récente tend à démontrer que le défaut de dimérisation du RG-II engendre une perte d'adhérence cellulaire entre la stèle (tissu lignifié) et le cortex (tissu non lignifié)⁶⁷. Un co-marquage monolignols et Kdo, monosaccharide spécifique du RG-II, permettrait d'avoir une meilleure idée de ce qui se passe au niveau de cette interface.

- Un mutant *ccr1* : Les mutants *ccr1* présentent une prolifération cellulaire accrue et des phénotypes différents au niveau de la paroi. La diminution ou la perte d'expression de la cinnamoyl CoA reductase (CCR1) aboutit à une diminution du taux de lignines (65% à 75% comparé au sauvage) et des défauts de croissance. Il a été montré que la perte de fonction de CCR1 provoque l'expression de PR protéines (pathogenesis-related proteins) qui sont impliquées dans la mise en place des mécanismes de défense. Dans ce mutant, il y a aussi un remodelage pariétal important grâce à l'expression de nombreuses enzymes de remodelage des homogalacturonanes de la paroi. Cela entraîne la production de fragments pectiques de petites tailles (oligogalacturonates OG) qui sont capables d'élucider les mécanismes de défense des plantes⁶⁵. Ces résultats mettent en avant un lien fort entre lignines et remodelage pectique.

- Un double mutant *ccr1* et *feronia* : Des résultats préliminaires (collaboration A. Voxeur, R. Dixon)⁶⁹ ont montré que la mutation de FERONIA chez le mutant *ccr1* (double mutant *ccr1fer4*) inhibe le mécanisme de remodelage pariétal observé chez le mutant *ccr1* responsable de la production d'OG chez le mutant *ccr1*. Cela met en évidence que l'altération du contenu en lignines provoquant une production d'OG est dépendante de la présence du récepteur Feronia. Il est aussi intéressant de noter que ce double mutant *ccr1fer4* possède lui aussi

une perte d'adhérence cellulaire entre la stèle (tissu lignifié) et le cortex (tissu non lignifié) suggérant que le remodelage pectique, incluant le RG-II, est impliqué dans le mécanisme de compensation induit par le défaut de lignine.

La visualisation simultanée du RG-II et des lignines pourrait permettre de comprendre le rôle du remodelage pectique dans les mécanismes de compensation d'un défaut de lignine.

L'observation des polymères marqués sera réalisée par microscopie confocale. Le suivi sera fait après incorporation dans une tige en développement d'*Arabidopsis thaliana* ou après incorporation sur des coupes fraîches de tiges. La détection des signaux fluorescents sera effectuée et comparée à l'autofluorescence des molécules pour différencier les nouveaux polymères formés des anciens.

iv) Résultats attendus

L'idée de ce projet est d'acquérir des connaissances sur le fonctionnement de la mise en place des parois des plantes en interaction avec leur environnement. Dans un premier temps, il s'agira de cartographier les composés présents, comment ils sont intégrés aux autres polymères et comment les modulations structurelles ont un impact sur les propriétés de la paroi cellulaire, en particulier la lamelle moyenne, interface entre les parois primaires et secondaires. Dans un second temps, l'objectif est de comprendre comment les structures hétérogènes de la paroi cellulaire réagissent aux variations environnementales et mécaniques au cours du développement cellulaire et de la croissance des organes. A plus long terme, ce projet pourra permettre l'étude de la production de molécules à haute valeur ajoutée pour des solutions de biocontrôle. Le développement du bio-contrôle est devenu un enjeu majeur en agriculture car il constitue un levier essentiel pour réduire l'usage des produits phytosanitaires de synthèse. L'enjeu est d'identifier les molécules à forte efficacité qui sont capables de stimuler la croissance ou la protection des plantes. Appréhender cet axe de recherche nous permettra de mieux comprendre le développement des plantes et leur adaptation. De plus, grâce à la caractérisation de nouvelles activités enzymatiques, de nouvelles approches de déconstruction ou de valorisation de la biomasse végétale pourront être proposées.

6 Conclusions

En général, l'image de la chimie est peu flatteuse, jugée souvent polluante et dangereuse. La chimie connaît de grandes mutations ces dernières années. On se tourne actuellement vers une chimie plus respectueuse de l'environnement. Mon objectif est de respecter les principes de la chimie verte (moins d'étapes de synthèse, moins d'énergie utilisée, durabilité) que ce soit au niveau des matières premières utilisées qu'au niveau du procédé lui-même, en utilisant la chimie des plantes pour remplacer la chimie provenant du pétrole, pour l'obtention de substituts directs ou indirects.

Je vous ai présenté ici les 3 projets à courts et moyens termes que je compte poursuivre ou développer, allant de la recherche fondamentale à la recherche appliquée. Ces projets sont bien sûr l'œuvre d'un collectif (étudiants, techniciens, chercheurs, réseau). Tous les projets sont interconnectés, ils vont de la connaissance de la mise en place de la paroi cellulaire végétale, *in vivo*, jusqu'à l'étude de la variabilité des fonctionnalités des polymères phénoliques pour la conception de nouvelles chaînes de valeurs exploitant les lignocelluloses.

Pour moi, un aspect tout aussi important de notre métier est la diffusion des connaissances vers des publics spécialistes ou non, la formation des doctorants et des étudiants par la recherche. Chaque sujet présenté est ou sera rattaché à un ou plusieurs doctorants ainsi qu'à des étudiants stagiaires. J'espère avoir réussi à vous démontrer par ce manuscrit mes capacités à diriger des recherches.

7 Bibliographie

- ¹ a) B. Cottyn, D. Vichard, F. Terrier, P. Nioche, C.S. Raman, *Synlett* **2007**, *08*, 1203 ; b) B. Cottyn, F. Acher, B. Ramassamy, L. Alvey, M. Lepoivre, Y. Frapart, D. Stuehr, D. Mansuy, J.L. Boucher, D. Vichard, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 5962 ; c) B. Cottyn, A. Starosotnikov, D. Vichard, R. Goumont, S. Shevelev, F. Terrier, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1137.
- ² S.M. Myers, R.H. Bawn, L.C. Bisset, T.J. Blackburn, B. Cottyn, L. Molyneux, A.C. Wong, C. Cano, W. Clegg, R.W. Harrington, H. Leung, L. Rigoreau, S. Vidot, B.T. Golding, R.J. Griffin, T. Hammonds, D. Newell, I.R. Hardcastle, *ACS Comb. Sci.* **2016**, *18*, 8, 444.
- ³ Y. Zhao, Y. Man, J. Wen, Y. Guo, J. Lin, *Trends Plant Sci.* **2019**, *24*, 867.
- ⁴ B. Cottyn, A. Kollmann, P. Waffo-Teguo, P.H. Ducrot, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 7282.
- ⁵ B. Cottyn, M. Rivard, A. Majira, J. Beauhaire, F. Allais, T. Martens, S. Baumberger, P.H. Ducrot, *Phytochem. Letters* **2015**, *13*, 280.
- ⁶ S. Berthet **2010** Thèse : *Identification et caractérisation de laccases impliquées dans la polymérisation des monolignols chez la plante modèle Arabidopsis thaliana.*
- ⁷ a) E. Gerbin, Y.M. Frapart, C. Marcuello, B. Cottyn, L. Foulon, M. Pernes, D. Crônier, M. Molinari, B. Chabbert, P.H. Ducrot, S. Baumberger, V. Aguié-Béghin, B. Kurek, *Biomacromolecules* **2020**, *21*, 3163; b) E. Gerbin, G.N. Rivière, L. Foulon, Y.M. Frapart, B. Cottyn, M. Pernes, C. Marcuello, B. Godon, A. Gainvors-Claissé, D. Crônier, A. Majira, M. Osterberg, B. Kurek, S. Baumberger, V. Aguié-Béghin, *Int. J. Biol. Macromol.* **2021**, *181*, 136.
- ⁸ M. Thierry, A. Majira, B. Pégot, L. Cezard, F. Bourdreux, G. Clément, F. Perreau, S. Boutet-Mercey, P. Diter, G. Vo-Thanh, C. Lapierre, P.H. Ducrot, E. Magnier, S. Baumberger, B. Cottyn, *ChemSusChem* **2018**, *11*, 439.
- ⁹ A. Majira, B. Godon, L. Foulon, J.C. van der Putten, L. Cézard, M. Thierry, F. Pion, A. Bado-Nilles, P. Pandard, T. Jayabalan, V. Aguié-Béghin, P.H. Ducrot, C. Lapierre, G. Marlair, R.J.A. Gosselink, S. Baumberger, B. Cottyn, *ChemSusChem* **2019**, *12*, 1.
- ¹⁰ G.M.M. Rashid, X. Zhang, R.C. Wilkinson, V. Fülöp, B. Cottyn, S. Baumberger, T.D.H. Bugg, *ACS Chem. Biol.* **2018**, *13*, 2920.
- ¹¹ a) M. Daou, L. Correia, A. Majira, L. Cézard, B. Cottyn, F. Pion, D. Navarro, E. Drula, E. Record, S. Raouche, S. Baumberger, C. Faulds, *Fungi* **2021**, *7*, 39 ; b) M. Daou, A. Bisotto, M. Haon, L. Oliveira-Correia, B. Cottyn, E. Drula, S. Garajova, E. Bertrand, E. Record, D. Navarro, S. Raouche, S. Baumberger, C.B. Faulds, *Journal of Fungi* **2021**, *7*, 643.
- ¹² a) Y. Martinetto, B. Pégot, C. Roch-Marchal, B. Cottyn, S. Floquet, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2020**, 228; b) Y. Martinetto, S. Basset, B. Pégot, C. Roch-Marchal, F. Camerel, J. Jeftic, B. Cottyn-Boitte, E. Magnier, S. Floquet, *Molecules* **2021**, *26*, 496; c) Y. Martinetto, B. Pégot, C. Roch-Marchal, M. Haouas, B. Cottyn-Boitte, F. Camerel, J. Jeftic, D. Morineau, E. Magnier, S. Floquet, *New J. Chem.* **2021**, *45*, 9751.
- ¹³ M. Hochegger, B. Cottyn, L. Cézard, S. Schober, M. Mittelbach, *Int. J. Chem. Eng.* **2019**, Article ID 1734507, <https://doi.org/10.1155/2019/1734507>.
- ¹⁴ M. Hochegger, G. Trimmel, B. Cottyn, L. Cézard, A. Majira, S. Schober, M. Mittelbach, *Catalysts* **2019**, *9*, 12, 996.
- ¹⁵ S. Garajova, I. Patel, A. Lomascolo, F. Legée, L. Cézard, B. Cottyn, M. Lecourt, E. Bertrand, G. Sciara, S. Tapin-Lingua, S. Baumberger, C.B. Faulds, E. Record, *Eur. J. Wood Wood Prod.* **2021**, *79*, 1369.
- ¹⁶ C. Holt, B. Cottyn, S. Baumberger, K. Kovacs-Schreiner, A.J. Blacker, *J. Agric. Food Chem.* **2020**, *68*, 14297.
- ¹⁷ M. Havé, T. Balliau, B. Cottyn, E. Déron, G. Cuffe, F. Soulay, A. Lornac, P. Reichman, N. Dissmeyer, J.C. Avicé, P. Gallois, L. Rajjou, M. Zivy, C. Masclaux-Daubresse, *J. Exp. Bot.* **2018**, *69*, 6, 1369.
- ¹⁸ C. A. Gasser, G. Hommes, A. Schäffer, P.F.X. Corvini, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, *95*, 1115.
- ¹⁹ M. Saisu, T. Sato, M. Watanabe, T. Adschiri, K. Arai, *Energy Fuels* **2003**, *17*, 922.
- ²⁰ a) Y. Martinetto, B. Pégot, C. Roch-Marchal, B. Cottyn-Boitte, S. Floquet, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2020**, 228; b) Y. Martinetto, S. Basset, B. Pégot, C. Roch-Marchal, F. Camerel, J. Jeftic, B. Cottyn-Boitte, E. Magnier, S. Floquet, *Molecules* **2021**, *26*, 496; c) Y. Martinetto, B. Pégot, C. Roch-Marchal, M. Haouas, B. Cottyn-Boitte, F. Camerel, J. Jeftic, D. Morineau, E. Magnier, S. Floquet, *New J. Chem.* **2021**, *45*, 9751.
- ²¹ Z. Ju, W. Xiao, X. Yao, X. Tan, B.A. Simmons, K. L. Sale, N. Sun, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2020**, *22*, 2878.
- ²² Z. Cai, J. Long, Y. Li, L. Ye, B. Yin, L.J. France, J. Dong, L. Zheng, H. He, S. Liu, S.C.E. Tsang, X. Li, *Chem.* **2019**, *1*.
- ²³ Y. Li, X. Zhang, Z. Li, J. Song, X. Wang, *ChemSusChem* **2019**, *12*, 4936.
- ²⁴ G. F. De Gregorio, R. Prado, C. Vriamont, X. Erdocia, J. Labidi, J.P. Hallett, T. Welton, *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2016**, *4*, 6031.

- ²⁵ N. Shi, D. Liu, Q. Huang, Z. Guo, R. Jiang, F. Wang, Q. Chen, M. Li, G. Shen, F. Wen, *Bioresour. Technol.* **2019**, *283*, 174.
- ²⁶ M. Thierry, A. Majira, B. Pégot, L. Cezard, F. Bourdreux, G. Clément, F. Perreau, S. Boutet-Mercey, P. Diter, G. Vo-Thanh, et al., *ChemSusChem* **2018**, *11*, 439.
- ²⁷ A. Majira, B. Godon, L. Foulon, J. van der putten, L. Cézard, M. Thierry, F. Pion, A. Bado-nilles, P. Pandard, T. Jayabalan, et al., *ChemSusChem* **2019**, *12*, 4799.
- ²⁸ a) C. Zhang, H. Li, J. Lu, X. Zhang, K. MacArthur, M. Heggen, F. Wang, *ACS Catal.* **2017**, DOI: <https://doi.org/10.1021/acscatal.7b00148>; b) C. Lancefield, O. Ojo, F. Tran, N. Westwood, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 258–262; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 260–264; c) L. Shuai, M. Amiri, Y. Questell-Santiago, F. Héroguel, Y. Li, H. Kim, R. Meilan, C. Chapple, J. Ralph, J. Luterbacher, *Science* **2016**, *354*, 329–333; d) C. F. Zhang, J. M. Lu, X. C. Zhang, K. MacArthur, M. Heggen, H. J. Li, F. Wang, *Green Chem.* **2016**, *18*, 5456–5665.
- ²⁹ a) C. Streb, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 1651; b) I.N. Lykakis, E. Evgenidou, M. Orfanopoulos, *Curr. Org. Chem.* **2012**, *16*, 2400.
- ³⁰ M.D. Tzirakis, I.N. Lykakis, M. Orfanopoulos, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 2609.
- ³¹ a) L. M. M. Mouterde, A. L. Flourat, M. M. M. Cannet, P. H. Ducrot, F. Allais, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *1*, 173; b) A.S. Jaufurally, A.R.S. Teixeira, L. Hollande, F. Allais, P.H. Ducrot, *ChemistrySelect* **2016**, *1*, 5165; c) A. L. Flourat, A.A.M. Peru, A. Haudrechy, J.H. Renault, F. Allais, *Front. Chem.* **2019**, *7*.
- ³² a) V. Méchin, S. Baumberger, B. Pollet, C. Lapierre, *Phytochem.* **2007**, *68*, 571; b) N. Demont-Caulet, C. Lapierre, L. Jouanin, S. Baumberger, V. Méchin, *Phytochem.* **2010**, *71*, 1673.
- ³³ T. Renders, S.V.de Bosch, S.F. Koelewijn, W. Schutyser, B.F. Sels, *Energy Environ. Sci.* **2017**, *10*, 1551.
- ³⁴ L. Avérous, S. Caillol, H. Cramail, *actualité chimique* **2017**, 422.
- ³⁵ a) J. Hu, Q. Zhang, D.J. Lee, *Bioresour. Technol.* **2018**, *247*, 1181; b) S. Constant, H.L.J. Wienk, A.E. Frissen, P. de Peinder, R. Boelens, D.S. van Es, R.J.H. Grisel, B.M. Weckhuysen, W.J.J. Huijgen, R.J.A. Gosselink, P.C.A. Bruijninx, *Green Chem.* **2016**, *18*, 2651; c) T. Aro, P. Fatehi, *ChemSusChem* **2017**, *10*, 1861.
- ³⁶ Zelcor knowledge book, <https://plastic-apps.transform.inrae.fr/zelcor/navig.php?idoc=1024&start=yes>
- ³⁷ P.B.V. Scholten, M.B. Figueirêdo, *Macromol. Chem. Phys.* **2022**, 2200017.
- ³⁸ W. Schutyser, T. Renders, S. Van den Bosch, S.F. Koelewijn, G.T. Beckham, B.F. Sels, *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 852.
- ³⁹ a) E.C.D. Tan, P. Lamers, *Front. Sustain.* **2021** <http://doi.org/10.3389/frsus.2021.701509>; b) A.W. Bartling, M.L. Stone, R.J. Hanes, A. Bhatt, Y. Zhang, M.J. Bidy, R. Davis, J.S. Kruger, N.E. Thornburg, J.S. Luterbacher, R. Rinaldi, J.S.M. Samec, B.F. Sels, Y. Roman-Leshkov, G.T. Bekham, *Energy Environ. Sci.* **2021**, *14*, 4147.
- ⁴⁰ Chimie verte et industries agroalimentaires - Vers une bioéconomie durable. **2020**, S. Baumberger (Ed.), Lavoisier, 560 p.
- ⁴¹ L. Maisonneuve, G. Chollet, E. Grau, H. Cramail, *OCL* **2016**, *23*, D508.
- ⁴² L.König-Mattern, A.O. Komarova, A. Ghosh, S. Linke, L.K. Rihko-Struckmann, J. Luterbacher, K. Sundmacher, *Chem. Eng. J.* **2023**, *452*, 139476.
- ⁴³ a) A. T. Smit, W.J.J. Huijgen, R.J.H. Grisel, WO 2014/126471 A1, **2014**; b) A.T. Smit, A. van Zomeren, K. Dussan, L.A. Riddell, W.J.J. Huijgen, J.W. Dijkstra, P.C.A. Bruijninx, *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2022**, *10*, 18, 6012.
- ⁴⁴ a) Y.M. Questell-Santiago, M.V. Galkin, K. Barta, J.S. Luterbacher, *Nat. Rev. Chem.* **2020**, *4*, 311; b) M. Taleb Amiri, G.R. Dick, Y.M. Questell-Santiago, J.S. Luterbacher, *Nat. Protoc.* **2019**, *14*, 921.
- ⁴⁵ W. Lan, M.T. Amiri, C.M. Hunston, J.S. Luterbacher, *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 1370.
- ⁴⁶ J. Afonso, A. Mezzetta, I.M. Marrucho, L. Guazzelli, *Green Chem.* **2023**, *25*, 59.
- ⁴⁷ Y. Liu, N. Deak, Z. Wang, H. Yu, L. Hameleers, E. Jurak, P.J. Deuss, K. Barta, *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 5424.
- ⁴⁸ B.B. Hansen, S. Spittle, B. Chen, D. Poe, Y. Zhang, J.M. Klein, A. Horton, L. Adhikari, T. Zelovich, B.W. Doherty, B. Gurkan, E.J. Maginn, A. Ragauskas, M. Dadmun, T.A. Zawodzinski, G.A. Baker, M.E. Tuckerman, R.F. Savinell, J.R. Sangoro, *Chem. Rev.* **2021**, *121*, 1232.
- ⁴⁹ a) S. Wolf, *Annu. Rev. Plant Biol.* **2022**, *73*, 323; b) L.A. Baez, T. Ticha, T. Hamman, *Plant. Mol. Biol.* **2022**, *109*, 483.
- ⁵⁰ N.D. Bonawitz, C. Chapple, *Annu. Rev. Genet.* **2010**, *44*, 337.
- ⁵¹ Y. Tobimatsu, *Cell Chem. Biol.* **2017**, *24*, 246.
- ⁵² J.M. Baskin, J.A. Prescher, S.T. Laughlin, N.J. Agard, P.V. Chang, I.A. Miller, A. Lo, J.A. Codelli, C.R. Bertozzi, *PNAS* **2007**, *104*, 16793.
- ⁵³ C. Biot, B. Vauzeilles, *Actualité Chimique* **2021**, 468, 16.
- ⁵⁴ C.T. Anderson, I.S. Wallace, *Plant Signal.Behav.* **2012**, *7*, 661.

-
- ⁵⁵ a) M. Ropitiaux, Q. Hays, A. Baron, L. Fourmois, I. Boulogne, B. Vauzeilles, P. Lerouge, J.C. Mollet, A. Lehner, *The Plant Journal* **2022**, *110*, 916 ; b) J.L. Pandey, B. Wang, B.G. Diehl, T.L. Richard, G. Chen, C.T. Anderson, *Plos One* **2015**, *10*, e0121334.
- ⁵⁶ C.T. Anderson, I.S. Wallace, C.R. Somerville, *PNAS* **2012**, *109*, 1329.
- ⁵⁷ M. Dumont, A. Lehner, B. Vauzeilles, J. Malassis, A. Marchant, K. Smith, B. Linciau, A. Baron, J.M. Pons, C.T. Anderson, D. Schapman, L. Galas, J.C. Mollet, P. Lerouge, *The Plant Journal* **2016**, *85*, 437.
- ⁵⁸ Y. Tobimatsu, D. Van de Wouwer, E. Allen, R. Kumpf, B. Vanholme, W. Boerjan, J. Ralph, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 12262.
- ⁵⁹ N. Bukowski, J.L. Pandey, L. Doyle, T.L. Richard, C.T. Anderson, Y. Zhu, *Bioconjugate Chem.* **2014**, *25*, 2189.
- ⁶⁰ C. Simon, C. Lion, C. Spriet, F. Baldacci-Cresp, S. Hawkins, C. Biot, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 1.
- ⁶¹ I. Cesarino, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2019**, *56*, 209.
- ⁶² R.S. Llano, E.A. Zaballa, J. Bañuelos, C.F.A.G. Duran, J.L.B. Vazquez, E.P. Cabrera, I.L. Arbeloa, Book : *Phytochemistry and phyophysics* **2018**, Chapitre 2.
- ⁶³ G. Paës, *Molecules* **2014**, *19*, 9380.
- ⁶⁴ J. Rabah, L. Yonkeu, K. Wright, A. Vallée, R. Méallet-Renault, M.H. Ha-Thi, A. Fatima, G. Clavier, H. Fensterbank, E. Allard, *Tetrahedron* **2021**, *100*, 132467.
- ⁶⁵ L. Gallego-Giraldo, C. Liu, S. Pose-Albacete, S. Pattathil, A.G. Peralta, J. Young, J. Westpheling, M.G. Hahn, X. Rao, J.P. Knox, B. De Meester, W. Boerjan, R.A. Dixon, *PNAS* **2020**, *117*, 3281.
- ⁶⁶ a) W. Feng, D. Kita, A. Peaucelle, H.N. Cartwright, V. Doan, Q. Duan, M.C. Liu, J. Maman, L. Steinhorst, I. Schmitz-Thom, R. Yvon, J. Kudla, H.M. Wu, A.Y. Cheung, J.R. Dinneny, *Curr. Biol.* **2018**, *28*, 666 ; b) H. Guo, T.M. Nolan, G. Song, S. Liu, Z. Xie, J. Chen, P.S. Schnable, J.W. Walley, Y. Yin, *Curr. Biol.* **2018**, *28*, 3316 ; c) H. Liao, R. Tang, S. Luan, F. Yu, *Plant Cell Physiol.* **2017**, *58*, 1143.
- ⁶⁷ A. Voxeur, L. Soubigou-Tacommat, F. Legée, K. Sakai, S. Antelme, M. Durand-Tardif, C. Lapierre, R. Sibout, *Plos One* **2017**, *12*, e0184820.
- ⁶⁸ M.A. O'Neill, S. Eberhard, P. Albersheim, A.G. Darvill, *Science* **2001**, *294*, 846.
- ⁶⁹ C. Liu, H. Yu, A. Voxeur, X. Rao, R.A. Dixon, *Sci. Adv.* **2022**, *submitted article*.

Titre : De la chimie organique de synthèse à la chimie verte : compréhension et valorisation de biomasses végétales

Mots clés : chimie verte, lignines, catalyse, biomasse, bioraffinerie, bioéconomie.

Résumé :

Les objectifs principaux de mes travaux de recherche, réalisés en partenariat et dans un cadre interdisciplinaire, sont de comprendre les mécanismes enzymatiques et chimiques qui gouvernent la mise en place des lignines au sein des parois végétales, de comprendre les spécificités de la biomasse lignocellulosique, d'estimer ses potentialités dans une démarche de valorisation et d'utilisation des lignines ou de résidus ligneux issus des industries de transformation de la biomasse, pour la fonctionnalisation de matériaux ou la production de molécules biosourcées pour l'industrie chimique.

Ce manuscrit d'HDR retrace mon parcours, récapitule les différents projets de recherche dans lesquels j'ai été impliquée, ainsi que mes projets actuels, entre recherche fondamentale et recherche appliquée. Ce manuscrit reflète ma prise de conscience quant à la nécessité de m'orienter vers une chimie plus « vertueuse » et il reflète également mon engagement dans la formation des étudiants par la recherche.

Title : From organic synthesis to green chemistry : understanding and valorization of plant biomass

Keywords : green chemistry, lignins, catalysis, biomass, biorefinery, bioeconomy

Abstract :

The main objectives of my research work, carried out in partnership and in an interdisciplinary framework, are to understand the enzymatic and chemical mechanisms that govern the establishment of lignins within plant cell walls, to understand the specificities of lignocellulosic biomass, to estimate its potential in a process of recovery and use of lignins or wood residues from biomass processing industries, for the functionalization of materials or the production of biosourced molecules for the chemical industry.

This HDR manuscript traces my background, summarizes the various research projects in which I have been involved, as well as my current projects, between fundamental and applied research. This manuscript reflects my awareness of the need to move towards a "greener" chemistry and it also reflects my commitment to training students through research.