

(12) BREVET D'INVENTION

(11) N° de publication :
MA 45892 B1

(51) Cl. internationale :
A23B 7/10

(43) Date de publication :
30.04.2021

(21) N° Dépôt :
45892

(22) Date de Dépôt :
20.05.2019

(71) Demandeur(s) :
• **IRIS COSMETOLOGIE, 126 quartier ALMASSAR, Marakech (MA)**
• **MAHROUZ MOSTAFA, Faculté des Sciences Semlalia, Dept Chimie, Avenue Prince Moulay Abdellah marrakech (MA)**

(72) Inventeur(s) :
MAHROUZ MOSTAFA

(74) Mandataire :
SMANI MOHAMED

(54) Titre : **PROCEDE BIOCHIMIOTHERMIQUE DE DECONTAMINATION MICROBIENNE DES PLANTES INDUSTRIELLES A USAGE : CULINAIRE, THERAPEUTIQUE ET COSMETIQUE**

(57) Abrégé : La presente invention concerne un precede thermique de decontamination de la menthe contaminee volontairement par des microorganismes tels qu' escherichia coli. Cette invention consiste a elaborer un nouveau precede competitif a d'autres precedes tel que : • L'irradiation par rayonnement Gamma • Choe thermique a differentiel thermique eleve : HTST • Traitement a la vapeur d'eau • Chauffage ohmique, • Micro ondes ; • Detente instantanee controlee (DIC) ; • La lumiere pulsee ; • La fumigation ; • L' Ultraviolet; • Les pressions hydrostatiques Ce precede a pour effet d'ameliorer la qualite sanitaire par élimination des bacteries des Plantes Aromatiques et Medicinales et autres plantes.

L'ABREGE

Procédé combiné BioPhysique nommé « ECoBioSol » de décontamination des Plantes Aromatiques et Médicinales et autres plantes

La présente invention concerne un procédé thermique de décontamination de la menthe

Contaminée volontairement par des microorganismes tels qu' escherichia coli.

Cette invention consiste à élaborer un nouveau procédé compétitif à d'autres procédés tel que :

- L'irradiation par rayonnement Gamma
- Choc thermique à différentiel thermique élevé : HTST
- Traitement à la vapeur d'eau
- Chauffage ohmique,
- Micro ondes ;
- Détente instantanée contrôlée (DIC) ;
- La lumière pulsée ;
- La fumigation ;
- L' Ultraviolet;
- Les pressions hydrostatiques

Ce procédé a pour effet d'améliorer la qualité sanitaire par élimination les bactéries des **Plantes Aromatiques et Médicinales et autres plantes**

Description de l'invention

La présente invention concerne un procédé de décontamination des plantes comestibles à usage alimentaire, sanitaire, thérapeutique et culinaire.

- 5 Le nouveau procédé de cette invention a une action bactéricide contre l'Escherichia Coli Il est caractérisé par un éco-traitement basé sur la combinaison d'un bio conservateur et traitement thermique conventionnel et solaire avec un gradient différentiel très faible.
- 6 Une variation de température de ce choc thermique ne dépasse pas 60°C alors que le brevet du procédé HTST dépasse les 500°C.

- Ce procédé a pour effet d'améliorer la qualité hygiénique, sanitaire et microbiologique de la plante comme les plantes aromatiques médicinales (menthe, thym, romarin,...) la poudre de cactus, stevia, cerise séchée, épices, végétaux et tout en conservant sa valeur commerciale, organoleptique, nutritionnelle et thérapeutique. Le procédé est compétitif sur le plan industriel dans la mesure où il est n'est pas énergivore.
 - Le procédé compétitif sur le plan industriel dans la mesure où il est relativement peu coûteux par rapport à des technologies lourdes
 - Le procédé est adapté aux PME:
 - Le procédé est compétitif sur le plan industriel dans la mesure où il impact peu sur l'environnement.
 - Le procédé est compétitif sur le plan industriel dans la mesure où il est moins destructif que d'autres procédés utilisant des hautes températures (choc thermique) en garantissant au consommateur la préservation des qualités physico chimiques, organoleptiques, nutritionnelles, diététiques, thérapeutiques,...)
 - Le procédé est compétitif sur le plan industriel dans la mesure où il est sécuritaire et simple à utiliser et ce par rapport à des technologies lourdes : micro onde, irradiation
- ✓ Il consiste à traiter la plante en série en deux étapes.
 - ✓ La première étape consiste à traiter la plante par une solution d'antiseptiques naturels tels que l'acide citrique ou un jus de citron très dilué. Ce premier traitement se fait avec des solutions diluées de 0,1 à 5 % p/p et à des températures de 5 à 25°C

- ✓ La seconde étape consiste à porter la plante préalablement aspergée par la solution naturelle à froid ou à température ambiante de 20°C, à une température de 30 à 80°C

L'entrée de la plante se fait dans une trémie (1)

La plante est entraînée dans une chambre (2) relativement froide pendant un temps court par mouvement circulaire des palettes et arrosée par un système doseur en volume de la solution d'acide citrique à concentration fixe (3) chambre froide d'aspersion

La plante ainsi imprégnée du liquide à froid dans la première chambre et entraînée en continu dans une seconde chambre (4) chambre de séchage hybride solaire et conventionnelle à air chaud

- ✓ portée à chaud ou elle subit un choc thermique suivi d'un séchage jusqu'à une teneur d'humidité normalisée

La plante ainsi traitée est aussitôt conditionnée (5) stockage de la plante décontaminée

Etat de la technique :

Les plantes médicinales et aromatiques (PAM) ont beaucoup d'importance pour la recherche pharmaceutique, alimentaire et cosmétique. Leurs huiles essentielles constituent la valeur commerciale de ces PAM en quantité et en qualité. Néanmoins, le commerce de ces plantes connaît des problèmes liés à la qualité sanitaire et hygiénique :

- La multiplication des intermédiaires
- Les conditions de culture de la récolte de la distribution augmentent les risques de contamination microbienne.

15

Afin de répondre aux exigences de qualité et d'hygiène et respecter les normes de sanitaires plusieurs procédés de décontamination microbienne ont été utilisés : thermique athermiques, physique, chimique :

- traitement à la vapeur,
- chauffage ohmique,
- choc thermique (HTST : haute température à courte durée) de -100 à plus de 500°C,
- micro ondes,
- détente instantanée contrôlée (DIC) et la lumière pulsée,
- la fumigation,
- l'ionisation RX,UV ;
- procédés par microonde,... : non pratique couteux, destructeur de la qualité
- Procédés thermiques à énergie conventionnelle (pasteurisation UHT,...) : couteux et destructeur de la qualité
- Irradiation gamma (décontamination de référence) malgré son efficacité de stérilisation cette technologie lourde très onéreuse et non adaptée et non à la portée des PME de certains pays de sud ou en voie de développement. D'autant plus c'est une technologie à haut risque

Ces procédés ayant des répercussions négatives sur le surcout commerciale et la qualité sanitaire, nutritionnelle, organoleptique, physico-chimique des plantes des végétaux en général, à usage industriel.

Notre procédé simple a permet de résoudre ces problématiques. C'est un procédé

25 non destructif, adaptable, nécessite de l'énergie à bon marché, usage de produits antiseptiques naturels, bio-sensibilisants, anti-oxydants et non toxiques et à bon marché et qui conserve la qualité totale du produit traité.

L'antiseptique naturel utilisé est une molécule organique composante principale des agrumes : l'acide citrique. C'est un acide organique très

répondu dans le règne végétal dans les fruits et légumes essentiellement. Il est utilisé dans l'industrie alimentaire comme acidifiant ou acidulant qui permet d'ajuster le pH des préparations alimentaires à des valeurs acides souhaitées.

Exposé de l'invention :

Notre invention consiste à utiliser un nouveau procédé de débactérisation grâce à un prétraitement combiné par une solution d'acide citrique suivi d'un choc thermique court

Cette technique permet de préserver la qualité microbiologique des PAM et des végétaux en général.

5 optimal et ceci suivant les étapes comme suit afin de vérifier la véracité et l'efficacité de notre procédé :

1- La contamination expérimentale :

La première étape consiste à contaminer volontairement nos échantillons de la plante (menthe , thym, romarin, poudre de cactus,...)

a- Echantillonnage :

10 Notre choix s'est fixé sur le traitement de plusieurs plantes menthe, thym, romarin, cactus, stevia,...sèches, découpés sans triage ni tamisage ni lavage.

La plante a été contaminé volontairement par l'Escherichia coli (E.Coli CCMMB4). Nous avons constitué deux lots de 100 sachets de 25 g chacun conditionnés sous vide.

b-La souche bactérienne de décontamination :

La contamination volontaire a été effectuée par une souche d'Ecoli CCMM B4.

Après culture de la souche d'E.coli sur gélose nutritive, nous avons préparé une suspension bactérienne de différentes concentrations dans l'eau distillée stérile, puis nous avons procédé à la contamination de la menthe sèche. Chaque échantillon était composé de quelques millilitres

20 d'une suspension d'Ecoli et 25 g de menthe sèche.

2 - Procédé de débactérisation original nommé : « procédé Eco-Bio-Sol »

Le traitement avec la solution diluée d'acide citrique a été usité de deux manières protocolaires :

- par trempage préalable ou lavage rapide
- soit par pulvérisation de la solution d'acide citrique (système de douche ou arrosage dynamique et continu)

a - Traitement par trempage

25 Pour appliquer un choc thermique avec un prétraitement basé sur l'utilisation d'une solution l'acide citrique diluée dans l'eau comme le montrent les tableaux 1 et 2 ci-dessous, nous avons trouvé la meilleure formulation en optimisant un certain nombre de paramètres :

- Détermination de la prise en poids après trempage dans l'acide citrique
- Détermination de la température et la durée pour enlever la masse de l'eau excédentaire.
- Détermination et optimisation de la meilleure formulation (Concentration d'acide citrique,

Température, temps du trempage et temps du chauffage) pour une meilleure stérilisation et Conservation de la qualité physico-chimique de la tisane.

Pour cela, différents essais ont été effectués afin de trouver la bonne formulation.

Il consiste à tremper préalablement 25g de la plante étudiée dans une bassine contenant 50 mL d'une solution d'acide citrique à températures variables (10 - 25°C) pendant un temps donné. En suite on soumit la plante à un choc thermique jusqu'à 80°C maximum.

Tableau 1 : traitement par trempage dans la solution d'acide citrique à des concentrations variables 0,25 et 0,5% (poids/poids)

5

traitement	Concentrations bactériennes initiales (UFC/g) dans l'échantillon	Pourcentage d'abattement (%)
Témoin : Lavage à l'eau pure stérilisée	2,5. 10 ³	0
Traitement thermique à 80 ° C Sans lavage préalable à l'eau pure stérilisée	150	94
Trempage dans l'eau suivi d'un chauffage à 80°C	400	84

Traitement thermique à 80°C avec prétraitement : trempage dans l'acide citrique à froid : choc thermique court et réduit	2,5. 10 ³	100
Traitement thermique à 80°C avec prétraitement : trempage dans l'acide citrique à température normale (25°C) : choc thermique court et réduit	2,5. 10 ³	100
Traitement thermique à 80°C avec prétraitement : trempage dans l'acide citrique à 0,25% et à température normale (25°C) : choc thermique court et réduit	2,5. 10 ³	100

10

15 Dans cette expérience, nous avons noté que lorsque le degré de contamination est inférieur à 10⁵ UFC par gramme, l'abattement de la bactérie *E. coli* était total aussi bien pour la concentration de 0,25 que pour la concentration de 0,5% (tableau 1).

5 Tableau 2 : résultats du traitement combiné à concentrations variables en acides citrique et en pullulation microbienne initiale

Abondances d' <i>E. coli</i> (UFC/g)	Concentration d'acide citrique (p/p)	L'effet débactérisant (%)
2,5. 10 ³	0,5%	100
5. 10 ³	0,25%	100
3,05 .10 ⁴	0,25%	100
2,4 .10 ⁵	0,25%	98

10 En revanche, quand le degré de contamination est supérieur à 10⁵ UFC par gramme de plante, l'abattement est aussi efficace mais pas totale (tableau 2).

b- Traitement par pulvérisation ou aspersion ou arrosage en continu

Pour plus de faisabilité industrielle et pour pallier aux inconvénients techniques de traitement par lavage par trempage, nous avons eu recours à la technique de pulvérisation (aspersion par la solution d'acide citrique en continue) marche en avant sans rupture de chaîne de traitement et le processus de décontamination. Cette technique permet de rendre la bactérie plus vulnérable et de faire une imprégnation minimale en surface de la plante par la solution d'acide citrique. D'autant plus le traitement par trempage impacte et réduit négativement la valeur marchande, thérapeutique et « aromatisante » de la plante par diffusion et lessivage des huiles essentielles.

15 La suspension bactérienne a été inoculée à la menthe par pulvérisation : une prise d'essai de 25 g de menthe contaminée a été pulvérisée par des volumes de 25 ml et 50ml d'acide citrique à une concentration de 0,25%.
Les résultats de cette expérience consignés dans le (tableau 3) montrent que les pourcentages d'abattement sont supérieurs à 99%. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par trempage.

20

Tableau 3 : Traitement par pulvérisation par la solution d'acide citrique à 0,25% de volumes variables sur une masse de 25 g de plante

Concentration bactérienne initiale en UFC/g	Traitement	Pourcentage d'abattement(%)
6,47. 10 ⁵	Témoin : eau pure stérilisée (0% d'acide citrique)	0
150	Pulvérisation avec 25ml de la solution d'acide citrique de concentration 0,25% (p/p)	99,97
425	Pulvérisation avec 50ml d'acide citrique à 0,25% p/p	99,67

25

Le traitement par trempage et le traitement par pulvérisation à l'acide citrique ont montré la même efficacité de traitement pour des inoculums de l'ordre de 10⁵ UFC/g et sur une prise d'essai de 25 g.

Résultats :

D'après nos résultats, nous constatons que le traitement thermique seul (sans traitement par l'acide citrique) a induit une réduction de 94% d'E coli et une réduction de 84%.

Par contre le trempage dans l'acide citrique à froid ou à température normale a montré un abattement de 100% d' Escherichia coli.

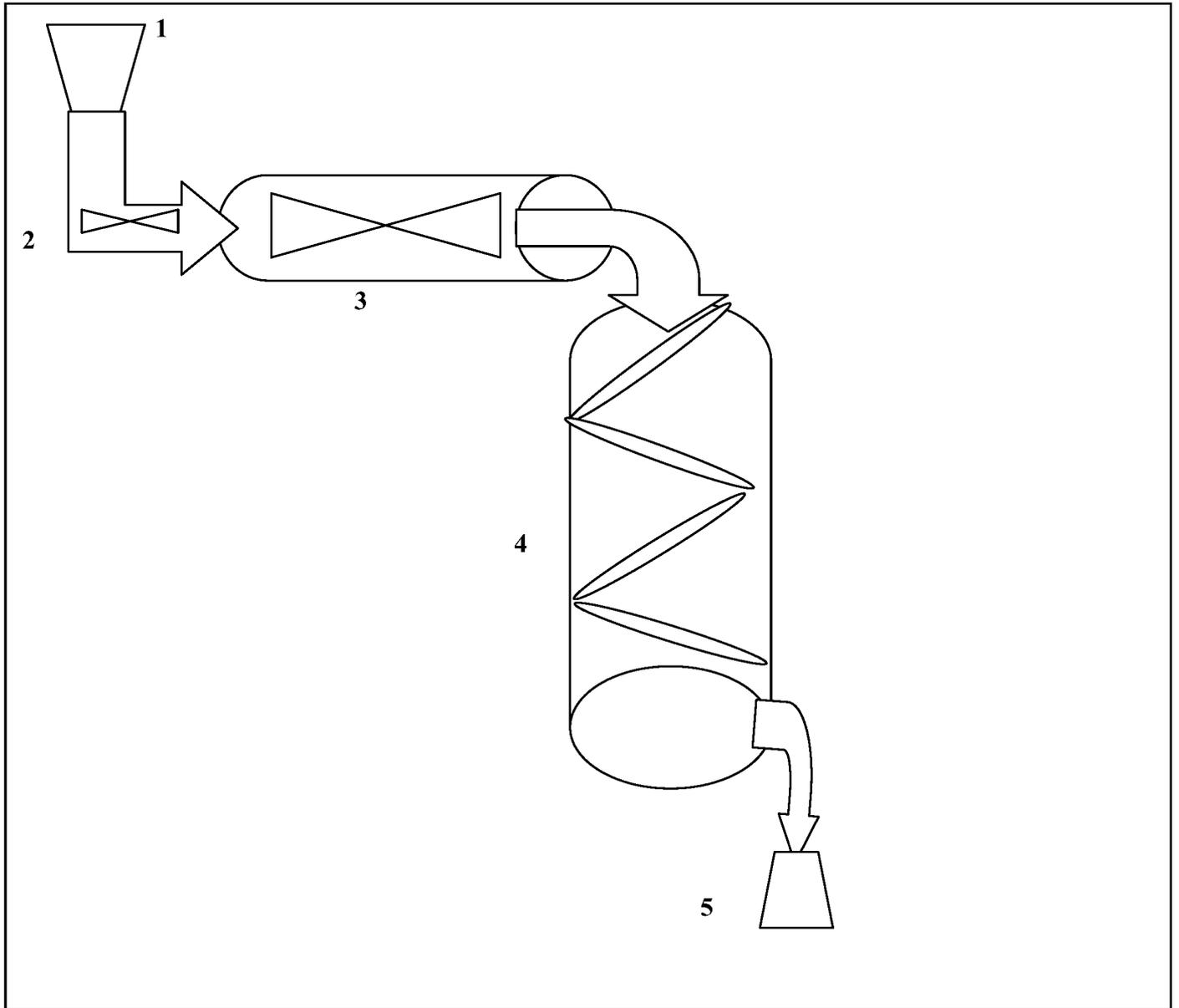
Ces résultats montrent que le traitement combiné (trempage dans l'acide citrique puis chauffage relativement rapide à des températures allant de 25° à 80° C) à un effet débactérisant total stérilisant par rapport à ceux de lavage à l'eau stérilisée ou par un traitement thermique à 80°C et pour une contamination bactérienne de l'ordre de $2,5 \cdot 10^3$ UFC/g d'une masse de menthe séchée de 25 g.

Les échantillons témoins de la menthe possèdent une teneur moyenne de 9% d'humidité. Le traitement combiné entraîne une augmentation de la masse d'eau pour atteindre des valeurs de 10 à 12%. En effet, Selon la norme, la teneur en humidité ne doit pas dépasser 12%. Le chauffage permet à la fois de rectifier cette teneur en cas de dépassement et désactiver la bactérie.

Les revendications :

- 1- procédé de stérilisation totale des plantes consiste en un traitement combiné en série par aspersion par une solution d'antiseptique naturel d'un gout habituel pour le consommateur gout d'agrumes, suivi d'un choc thermique modéré
- 2- Procédé selon la revendication 1 est composé de deux étapes. La première étape est un pré-traitement par une imprégnation de la plante par une solution d'acide citrique naturel diluée dans l'eau à une température de + 10° à + 25° C soit par trempage statique soit par aspersion continu. La seconde étape est un traitement par choc thermique modéré jusqu'à + 30° à + 80°C;
- 3- procédé consistant à effectuer et selon la revendication 2 une stérilisation totale de la menthe.
- 4- Stérilisation de la menthe et selon la revendication 3, consiste à utiliser un produit naturel organique : l'acide citrique suivi d'un petit choc thermique à basse température relative ce pour une durée de contact ne dépassant pas 30 minutes pour une contamination volontaire bactérienne de la menthe inférieure ou égale à 10^4 UFC/g.
- 5- Le procédé selon la revendication 4 est original et simple, il consiste à traiter un 1 kg de plante par 1 l de solution d'acide citrique à 25% soit 2,5 g d'acide citrique par Kg de plante.
- 6- Procédé selon la revendication 5 caractérisé en usage d'une quantité d'eau faible et recyclable
- 7- Procédé selon la revendication 1- 6 caractérisé en ce que la débactérisation est de 99% quant les teneurs en E coli sont supérieures à 10^5 UFC/g .

Schéma du prototype de l'EcoBioSol (EBS)





**RAPPORT DE RECHERCHE
AVEC OPINION SUR LA BREVETABILITE**
(Conformément aux articles 43 et 43.2 de la loi 17-97 relative à la
protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée
par la loi 23-13)

Renseignements relatifs à la demande	
N° de la demande : 45892	Date de dépôt : 20/05/2019
Déposant : IRIS COSMETOLOGIE and MAHROUZ MOSTAFA	
Intitulé de l'invention : PROCEDE BIOCHIMIOthermique DE DECONTAMINATION MICROBIENNE DES PLANTES INDUSTRIELLES A USAGE : CULINAIRE, THERAPEUTIQUE ET COSMETIQUE	
Le présent document est le rapport de recherche avec opinion sur la brevetabilité établi par l'OMPIC conformément aux articles 43 et 43.2, et notifié au déposant conformément à l'article 43.1 de la loi 17-97 relative à la protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.	
Les documents brevets cités dans le rapport de recherche sont téléchargeables à partir du site http://worldwide.espacenet.com , et les documents non brevets sont joints au présent document, s'il y en a lieu.	
Le présent rapport contient des indications relatives aux éléments suivants :	
Partie 1 : Considérations générales	
<input checked="" type="checkbox"/> Cadre 1 : Base du présent rapport <input type="checkbox"/> Cadre 2 : Priorité <input type="checkbox"/> Cadre 3 : Titre et/ou Abrégé tel qu'ils sont définitivement arrêtés	
Partie 2 : Rapport de recherche	
Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité	
<input checked="" type="checkbox"/> Cadre 4 : Remarques de forme et de clarté <input type="checkbox"/> Cadre 5 : Défaut d'unité d'invention <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 6 : Observations à propos de certaines revendications exclues de la brevetabilité <input type="checkbox"/> Cadre 7 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle	
Examineur: BASMA SADIKI	Date d'établissement du rapport : 19/07/2019
Téléphone: 212 5 22 58 64 14/00	



Partie 1 : Considérations générales**Cadre 1 : base du présent rapport**

Les pièces suivantes de la demande servent de base à l'établissement du présent rapport :

- Description
9 Pages
- Revendications
7
- Planches de dessin
1 Pages

Cadre 3 : Titre et Abrégé tel qu'ils sont définitivement arrêtés

- L'intitulé tel qu'il a été déposé « *ancien intitulé proposé par le déposant...* » a été modifié et arrêté par l'examineur (voir intitulé de l'invention).

PROCÉDE « EcoBioSol » Décontamination microbienne des plantes industrielles à usage : Culinaire, thérapeutique et cosmétique

Partie 2 : Rapport de recherche

Classement de l'objet de la demande :

CIB : Y02A40/943

CPC : A23B7/10 ; A23B7/154 ; A23B7/157

Plateformes et bases de données électroniques de recherche :

EPOQUENET, WPI, ScienceDirect, IEEE, ORBIT

Catégorie*	Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	N° des revendications visées
A	WO2010008899 ; FRESH EXPRESS INC [US], HO KAI LAI GRACE [US] ; 2010/01/21	1-7
A	WO2011107754 ; NATURAL BIOTECHNOLOGY SPRL [BE], DODD JEFFREY IAN [GB]; 2011/09/09	1-7
A	EP1010368 ; PERFORM PLUS N V [AN]; 2000/06/21	1-7

*Catégories spéciales de documents cités :

-« X » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
 -« Y » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
 -« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
 -« P » documents intercalaires ; Les documents dont la date de publication est située entre la date de dépôt de la demande examinée et la date de priorité revendiquée ou la priorité la plus ancienne s'il y en a plusieurs
 -« E » Éventuelles demandes de brevet interférentes. Tout document de brevet ayant une date de dépôt ou de priorité antérieure à la date de dépôt de la demande faisant l'objet de la recherche (et non à la date de priorité), mais publié postérieurement à cette date et dont le contenu constituerait un état de la technique pertinent pour la nouveauté

Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité

Cadre 4 : Remarques de forme et de clarté

Les termes « modéré », « original », « simple » et « faible » employés dans les revendications ont un sens relatif et laissent subsister un doute quant à la signification de la caractéristique technique à laquelle il se rapporte.

Cadre 7 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle

Nouveauté	Revendications 1-7	Oui
	Revendications aucune	Non
Activité inventive	Revendications 1-7	Oui
	Revendications aucune	Non
Application Industrielle	Revendications 1-7	Oui
	Revendications aucune	Non

Il est fait référence aux documents suivants. Les numéros d'ordre qui leur sont attribués ci-après seront utilisés dans toute la suite de la procédure

D1 : WO2010008899

1. Nouveauté

Aucun des documents cités ci-dessus ne divulgue l'ensemble des caractéristiques techniques des revendications 1-7. Par conséquent, l'objet de celles-ci est nouveau au sens de l'article 26 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

2. Activité inventive

Le document D1 est considéré comme étant l'état de la technique le plus proche de l'objet de la présente demande. Il divulgue des procédés et des compositions qui permettent de contrôler la charge bactérienne des produits en mettant en contact leur surface avec une solution aqueuse.

L'objet de la première revendication diffère de D1 en ce que le produit est traité par une solution acide citrique suivi d'un choc thermique de courte durée.

L'effet technique de cette différence est l'obtention d'un procédé de débactérisation plus efficace et sécurisé pour une utilisation alimentaire.

Le problème technique objectif est considéré comme la fourniture d'un procédé de débactérisation amélioré.

La solution proposée est inventive pour les raisons suivantes :

- Le document D1 divulgue une composition comportant plusieurs agents actifs dont l'acide citrique,
- Il n'y a aucune incitation dans l'état de l'art à utiliser un procédé chimio-thermique proposant l'acide citrique seul comme agent stérilisant pour obtenir une décontamination complète,
- Il n'est pas évident pour l'homme du métier d'obtenir un procédé de stérilisation des produits végétales, feuilles ou autres combiné biochimiothermique utilisant un seul agent (acide citrique) à partir de D1 seul ou combiné toute en sachant que celui-ci aura une décontamination complète (voir tableau 1 de la demande).

Par conséquent, l'objet des revendications 1-7 implique une activité inventive au sens de l'article 28 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

3. Application industrielle

L'objet de la présente invention est susceptible d'application industrielle au sens de l'article 29 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13, parce qu'il présente une utilité déterminée, probante et crédible.