

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 05.08.05.

③⑦ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 09.02.07 Bulletin 07/06.

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

⑥⑦ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : *ROQUETTE FRERES Société ano-
nyme — FR.*

⑦② Inventeur(s) : PASSE DAMIEN, DUCROQUET
CATHERINE ep. FOUACHE, VERRIN JEAN MARC et
BUREAU STEPHANIE.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : CABINET PLASSERAUD.

⑤④ COMPOSITION DE PROTEINES DE POIS.

⑤⑦ La présente invention est relative à une composition
de protéines de pois, caractérisée en ce qu'elle présente
une teneur en protéines sur matière sèche comprise entre
60 à 95 %, un profil de distribution des poids moléculaires
constitué de 1,5 à 3 % de protéines de plus de 100.000 Da,
25 à 55 % de protéines de plus de 15.000 et d'au plus de
100.000 Da, 15 à 30 % de protéines de plus de 5.000 et d'au
plus de 15.000 Da et de 25 à 45 % de protéines d'au plus
de 5.000 Da, et une teneur en protéines solubles, exprimée
selon un test A, compris entre 20 à 65 %.

FR 2 889 416 - A1



COMPOSITION DE PROTEINES DE POIS

La présente invention est relative à une composition de protéines de pois à haute teneur en protéines
5 caractérisée par son profil de distribution des poids moléculaires et sa teneur en protéines solubles.

Au sens de l'invention, on entend par « haute teneur en protéines », une teneur en protéines sur matière sèche comprise entre 60 et 95 %.

10 La présente invention est également relative à une composition de protéines de pois caractérisée par sa solubilité en fonction du pH, sa faible teneur en matières grasses extractibles et sa faible teneur en facteurs antitrypsiques.

15 Le pois est la légumineuse à graines riches en protéines qui, depuis les années 70, s'est le plus développée en Europe et majoritairement en France, notamment comme ressource protéique pour l'alimentation animale, mais aussi pour l'alimentation humaine.

20 Les protéines de pois sont constituées, comme toutes les protéines de légumineuses, de trois classes de protéines : les globulines, les albumines et les protéines dites « insolubles ».

Les protéines solubles du pois (soit 85 % des
25 protéines totales) rassemblent :

- les globulines (légumines, vicilines et convicilines), qui sont les principales protéines de réserve de la plante, et
- les albumines, qui sont constituées de molécules
30 ayant un rôle fonctionnel dans la graine (majoritairement les albumines PA1 et PA2).

Une classe mineure, représentant 15 % des protéines de la graine, est constituée des protéines insolubles. Cette fraction est rarement prise en compte dans la
35 littérature en raison des difficultés rencontrées pour son analyse.

La première classe de protéines solubles sont les globulines, solubles dans les solutions aqueuses salines et représentant entre 65 et 80 % des protéines de pois.

Elles regroupent deux protéines majeures (la légumine
5 et la viciline) et une troisième présente en plus faible quantité (la conviciline).

Le rapport viciline / légumine varie de 0,5 à 1,7 avec une moyenne de 1,1.

Les globulines contiennent une forte quantité
10 d'arginine, d'acide aspartique et d'acide glutamique.

Les légumine sont des protéines hexamériques de 360 à 410 kDa composées de 6 sous-unités bicaténaires de 60 kDa.

Les vicilines sont des protéines trimériques dont la
15 masse varie de 150 à 200 kDa.

Les convicilines présentent une structure tétramérique et leurs polypeptides constitutifs ont une masse d'environ 74 kDa. La forme finale de la protéine a une masse d'environ 280 kDa.

20 La deuxième classe de protéines solubles sont les albumines, protéines de faible masse moléculaire, solubles dans l'eau.

Les albumines représentent généralement entre 20 et 35 % des protéines extractibles du cotylédon et incluent la
25 plupart des protéines enzymatiques et métaboliques (environ 100 protéines différentes sont regroupées dans cette famille).

Les albumines sont riches en acides aminés soufrés et en lysine.

30 Les deux albumines majoritaires (PA1 et PA2) de masse 8 à 10 kDa et de masse 22 à 26 kDa, représentant 34 % de la fraction albumines totales (environ 17 % chacune).

Leur composition en acides aminés est plus équilibrée par rapport à celles des globulines, d'où une meilleure
35 qualité nutritionnelle des albumines.

Les autres protéines biologiquement actives classées parmi les albumines sont : les lipoxygénases (catalyseurs de l'oxydation des alcènes et notamment des acides gras), les lectines (par leur capacité à agglutiner des molécules glucidiques) et les inhibiteurs de protéases.

Chez le pois, les inhibiteurs de protéases les plus abondants sont les inhibiteurs de protéases à sérine, et plus particulièrement les inhibiteurs trypsiques. Ce sont des protéines de faible masse moléculaire (environ 16 kDa), riches en cystéine impliquée dans de nombreux ponts disulfures.

Ces inhibiteurs sont des protéines ou des polypeptides qui se lient de manière spécifique et stable aux enzymes protéolytiques et empêchent leur fonctionnement. Ceux-ci abaissent donc la valeur nutritionnelle des aliments.

La qualité des compositions de protéines de pois, recherchée pour leurs applications en alimentations humaine et animale, est basée sur les propriétés fonctionnelles des protéines constitutives desdites compositions prises individuellement.

Ces propriétés fonctionnelles sont leur capacité à se lier à l'eau, à se lier aux matières grasses, leur pouvoir moussant, dispersant, gélifiant, émulsifiant, leur solubilité et leur thermostabilité.

En fonction du type de protéines, les propriétés des compositions protéiques résultantes sont différentes, et changent essentiellement en fonction de certains paramètres, tels que par exemple la température ambiante ou le pH.

Il apparaît ainsi dans la littérature qu'en fonction des requis techniques, les propriétés des compositions protéiques doivent être ajustées de manière sélective par le choix de paramètres de fabrication tout à fait particuliers.

Ces paramètres de fabrication favorisent alors la présence de telles ou telles autres protéines constitutives du pois (par exemple albumines ou globulines) dans les compositions protéiques considérées.

5 Il se déduit de ce qui précède que l'utilisation des compositions de protéines de pois dans les applications alimentaires chez l'homme et l'animal est fonction de leur mode de préparation.

Ces modes de préparation conduisent classiquement à
10 l'obtention de « concentrats de protéines de pois » ou d' « isolats de protéines de pois » (quand le procédé d'extraction ne s'arrête pas à la préparation de la seule farine).

Les concentrats et les isolats de protéines de pois
15 sont définis en regard de leur contenu en protéines (cf la revue de J. GUEGUEN de 1983 dans *Proceedings of european congress on plant proteins for human food* (3-4) pp 267 - 304):

- les concentrats de protéines de pois sont décrits
20 comme présentant un contenu en protéines totales de 60 à 75 % sur sec, et

- les isolats de protéines de pois sont décrits comme présentant un contenu en protéines totales de 90 à 95 % sur sec,

25 le % étant exprimé en contenu en azote N x 6,25 (cf la revue de M. SORAL-SMIETANA et al dans *Polish Journal of food and nutrition Sciences*, 1998, vol 7/48 N°2, pp 193 - 200).

Deux voies sont classiquement utilisées pour extraire
30 les isolats et les concentrats de protéines de pois : la voie humide et la voie sèche.

L'utilisation de la voie humide (par extraction alcaline et précipitation acide ou ultrafiltration) pour l'extraction des protéines de pois n'est préconisée par les
35 spécialistes du domaine que pour l'obtention d'isolats de protéines.

En effet, la faible quantité de carbohydrates solubles ne permet pas l'utilisation de la voie humide pour l'obtention des concentrats de protéines de pois.

Ces procédés d'obtention des isolats de protéines de
5 pois sont souvent privilégiés car ils conduisent à des compositions contenant moins de facteurs anti-nutritionnels.

L'utilisation de la voie sèche, i.e. les procédés de classification par air, permet l'obtention des concentrats
10 de protéines de pois.

Il n'est donc pas possible de disposer d'un procédé unique permettant de préparer à façon à la fois des isolats et des concentrats de protéines de pois.

On obtient alors des compositions de protéines au
15 comportement différent, notamment sur le plan de leur solubilité dans l'eau en fonction du pH.

En effet, le profil de solubilité dans l'eau des isolats et des concentrats de protéines de pois (albumines comme globulines) est dépendant du pH de la solution
20 aqueuse, étant donné les valeurs de leurs pH isoélectriques (ou pHi) respectifs.

Par exemple, les isolats de protéines de pois présentent classiquement une excellente solubilité à pH alcalin et dans des gammes de pH très acide, comprise entre
25 2 et 3.

La plus faible solubilité est obtenue dans des zones de pH voisine du pH isoélectrique des protéines constitutives des isolats, i.e. des zones de pH comprises entre 4 et 6.

30 Les isolats de protéines de pois présentent par ailleurs de bonnes propriétés moussantes, mais doivent être concentrés pour être plus visqueux.

La qualité des compositions protéiques du pois de l'état de la technique est donc directement dépendante des
35 conditions opératoires mises en œuvre pour les préparer.

Au sein d'un même mode de préparation, en l'occurrence la voie humide, le choix d'un procédé d'extraction acide, alcalin ou neutre va également influencer directement les propriétés moussantes ou émulsifiantes des compositions protéiques obtenues.

De telles compositions protéiques ne peuvent donc être utilisées telles quelles dans n'importe quels domaines d'applications.

Il peut être alors nécessaire de modifier les compositions protéiques obtenues de manière à leur conférer les propriétés souhaitées, à l'aide par exemple de technologies complexes comme l'hydrolyse enzymatique.

Par exemple, pour l'aspect clef de la solubilité des compositions protéiques dans l'eau, il pourra être préféré d'utiliser des hydrolysats de protéines de pois plutôt que les protéines de pois elles-mêmes, malgré toutes les conséquences prévisibles sur la qualité du produit final que cela occasionnera.

De tout ce qui précède, il résulte qu'il existe un besoin non satisfait de disposer d'une composition de protéines de pois à haute teneur en protéines qui présente, par son profil en protéines, des propriétés fonctionnelles remarquables, telles que sa solubilité dans l'eau, mais aussi sa capacité à se lier à l'eau, à se lier aux matières grasses, son pouvoir moussant, dispersant, gélifiant et émulsifiant.

La Société Demanderesse a eu le mérite de concilier tous ces objectifs réputés jusqu'alors difficilement conciliables, en proposant une composition de protéines de pois, caractérisée en ce qu'elle présente :

- une teneur en protéines sur matière sèche d'au moins 60 % en poids, de préférence comprise entre 60 et 95 % en poids,
- un profil de distribution des poids moléculaires qui est constitué de :

- 1,5 à 3 % de protéines de plus de 100.000 Da,
- 25 à 55 % de protéines de plus de 15.000 et d'au plus de 100.000 Da,
- 15 à 30 % de protéines de plus de 5.000 et d'au plus de 15.000 Da,
- et de 25 à 45 % de protéines d'au plus de 5.000 Da,

- une teneur en protéines solubles, exprimée selon un test de mesure de la solubilité dans l'eau des protéines, comprise entre 20 et 65 %.

De manière surprenante et inattendue, la composition de protéines de pois selon l'invention présente une teneur en protéines comprise entre 60 et 95 % en poids sur sec qui autorise la mise à disposition à façon d'isolats ou de concentrats de protéines de pois.

La détermination de la teneur en protéines de ladite composition protéique conforme à l'invention est réalisée par la méthode de détermination de l'azote selon la méthode de DUMAS dans des échantillons dont la teneur présumée en azote est supérieure à 0,030 % (poids/poids), selon la norme NF V 18-120 - mars 1997.

La teneur en azote ou en protéines ($N \times 6,25$) est exprimée en grammes pour 100 grammes de produit.

A titre d'exemple, les compositions de protéines de pois commercialisées par les sociétés COSUCRA S.A. (Momalle - Belgique) ou PARRHEIM (Canada), sont uniquement commercialisées sous la forme d'isolats, sous les noms de marque respectives PISANE® et PROPULSE™.

La PISANE® et la PROPULSE™ présentent ainsi une teneur en protéines totales de l'ordre de 80 % comme il sera exemplifié ci-après.

La composition de protéines de pois selon l'invention présente également un profil de distribution des poids moléculaires qui est constitué de :

- 1,5 à 3 % de protéines de plus de 100.000 Da,
- 25 à 55 % de protéines de plus de 15.000 et d'au

plus de 100.000 Da,

- 15 à 30 % de protéines de plus de 5.000 et d'au plus de 15.000 Da,

- et de 25 à 45 % de protéines d'au plus de 5.000 Da.

5 La détermination des poids moléculaires des protéines constitutives de ladite composition est réalisée par chromatographie d'exclusion stérique ; la séparation se fait en fonction de la taille des molécules à séparer, les molécules de taille élevée étant éluées en premier.

10 La séparation est effectuée sur colonnes SUPERDEX 200 HR 10/30 et SUPERDEX Peptide HR 10/30 de Pharmacia Biotech mises en série, munies d'un détecteur UV 486 à 214 nm.

Le débit est réglé à 0,3 ml/min et la séparation s'effectue à température ambiante.

15 Il est procédé à une injection de 100 µl à 0,5 de brix, et les protéines sont éluées par du NaCl 0,05M (2,92 g/l) dans de l'eau qualité HPLC.

L'échantillon à injecter sur la colonne est préparé comme suit : on pèse dans un bécher de 50 ml exactement
20 0,1 g de l'échantillon, place 20 ml d'eau, laisse agiter à l'aide d'un barreau aimanté sur agitateur magnétique à 200 rpm pendant 1 heure. On filtre ensuite sur 0,45 µm et règle le brix à 0,5.

La colonne est calibrée avec un mélange témoin
25 commercialisé par BIORAD sous la référence 151-1901 composé de composés de poids moléculaire connu, i.e. la thyroglobuline (670.000 Da), l'albumine bovine (158.000 Da), l'ovalbumine (44.000 Da), la myoglobuline (17.000 Da) et la vitamine B12 (1.350 Da).

30 On trace la courbe Log (PM) en fonction du temps de rétention, et détermine ledit temps de rétention des composés protéiques de poids moléculaire de plus de 100.000 Da, de plus de 15.000 et d'au plus de 100.000 Da, de plus de 5.000 et d'au plus de 15.000 Da et d'au plus de
35 5.000 Da.

On démarre l'intégration des pics aux temps de rétention trouvés et effectue un dosage par répartition de surface.

Les résultats sont donnés en pourcentage de surface.

5 La répartition des surfaces du chromatogramme est représentative de la composition de la fraction protéique solubilisée dans l'eau.

Le pourcentage en protéines sur sec d'un pic du chromatogramme est donné par l'expression suivante :

10
$$\%/\text{sec d'un pic} = \frac{SP}{ST}$$

où *SP* représente la surface du pic, et *ST* la surface totale du chromatogramme.

15 Comme il sera exemplifié ci-après, la composition de protéines de pois présente un profil de distribution des poids moléculaires tout à fait unique, bien différent de celui des isolats de protéines de pois accessibles dans le commerce, notamment ceux de la PISANE® et de la PROPULSE™.

20 Cette composition protéique présente une teneur en protéines solubles, exprimée selon un test de mesure de la solubilité dans l'eau des protéines, comprise entre 20 et 65 %.

25 Ce test de mesure de la solubilité dans l'eau des protéines consiste à déterminer la teneur en matières solubles dans l'eau sans ajustement du pH par une méthode de dispersion d'une prise d'essai de l'échantillon dans de l'eau distillée, centrifugation et analyse du surnageant.

30 Dans un bécher de 400 ml, on introduit 200.0 g d'eau distillée à 20°C ± 2°C, et place sous agitation magnétique (barreau aimanté et rotation à 200 rpm). On ajoute exactement 5 g de l'échantillon à analyser.

On agite pendant 30 min, et on centrifuge pendant 15 minutes à 4.000 rpm. On réalise, sur le surnageant, la méthode de détermination de l'azote selon la méthode de 35 DUMAS précédemment citée.

La teneur en azote ou en protéines ($N \times 6,25$) est exprimée en grammes pour 100 grammes de produit. La composition protéique selon l'invention présente ainsi une teneur en protéines solubles qui varie avantageusement
5 entre 20 et 65 %.

La composition protéique selon l'invention peut être également caractérisée par sa solubilité aqueuse en fonction du pH, et plus particulièrement à une valeur de pH proche du pH_i de la majorité des protéines du pois, i.e.
10 valeur de pH comprise entre 4 et 6.

La composition protéique selon l'invention est ainsi caractérisée en ce que sa solubilité aqueuse déterminée selon un test de mesure de la solubilité dans l'eau des protéines est :

- 15 - comprise entre 10 et 20 % à pH 4,
- comprise entre 20 à 45 % à pH 6.

La mesure de la solubilité est réalisée dans les mêmes conditions que celles du test de mesure de la solubilité dans l'eau des protéines, à l'exception près que
20 les 200 g d'eau distillée qui sont ajoutés sous agitation au 5 g d'échantillon à analyser sont ajustés à un pH de 4 ou à un pH de 6 selon le cas.

Il est admis généralement que les protéines de pois présentent une solubilité relativement faible dans la gamme
25 de pH avoisinant leur pH_i .

Cela reste vrai pour la composition protéique selon l'invention, à l'exception près que, comme il sera exemplifié ci-après, la solubilité est égale, voire au mieux 1,5 fois plus grande à pH 4, et de solubilité
30 meilleure à pH 6 (jusqu'à deux fois plus soluble) que les isolats de protéines de pois PISANE® ou PROPULSE™.

La composition protéique selon l'invention est également caractérisée par sa teneur en matières grasses extractibles.

35 Cette teneur en matières grasses extractibles est déterminée selon le procédé A de la 2^{ème} directive CEE

amendée par celle du 20 décembre 1983, publiée au JOCE de 18 janvier 1984, - repris dans la NF V18-117 d'août 1997 « échantillons de catégorie A ».

Le principe de cette méthode repose sur l'extraction
5 par l'hexane des lipides d'un échantillon de 25 g dans un extracteur de type SOXHLET (le débit du reflux doit être réglé de façon à obtenir 10 cycles par heure), l'élimination du solvant et la pesée du résidu ainsi obtenu.

10 La teneur en lipides extractibles est exprimée en pourcentage en poids du résidu par rapport aux 25 g d'échantillon analysé.

La composition protéique selon l'invention présente alors une teneur en matières grasses extractibles comprise
15 entre 0,3 à 5 %, de préférence compris entre 0,3 et 1,5 % en poids.

Cette faible teneur en matières grasses extractibles est le reflet du niveau de pureté de ladite composition protéique.

20 Quant à la présence de facteurs antitrypsiques, preuve de la qualité nutritionnelle de la composition protéique conforme à l'invention, elle est déterminée comme comprise entre 2 et 5,5 TIU/mg.

La détermination de facteurs antitrypsiques consiste
25 à extraire par de la soude les inhibiteurs de la trypsine. Des volumes croissants de l'échantillon dilué sont alors mis en contact avec un excès de trypsine en présence de N-alpha-benzoyl D L-arginine p-nitroanilide (BAPNA) qui va alors être hydrolysé sous forme de p-nitroaniline, composé
30 absorbant à 410 nm. Après blocage de la réaction à l'acide acétique, l'augmentation de coloration est mesurée au spectrophotomètre à 410 nm.

La teneur en inhibiteurs est alors calculée à partir de la vitesse de diminution de la coloration.

35 Une unité de trypsine est arbitrairement définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour entraîner un

accroissement de 0,01 unités de l'absorbance à 410 nm pour 10 ml de mélange réactionnel dans les conditions de la méthode AOCS Ba 12-75.

D'après les travaux de KAKADE et al, 1969, 1 µg de
5 trypsine pure a une activité de 1,9 UT (unité d'activité tryptique), soit une absorbance de 0,019 unités.

A la connaissance de la société Demanderesse, les propriétés fonctionnelles de la composition de protéines de pois conforme à l'invention, tant au niveau de son profil
10 de distribution des poids moléculaires, de sa solubilité dans l'eau (notamment aux pH 4 et 6), de sa teneur en matières grasses extractibles ou de sa teneur en facteurs anti-tryptiques n'ont jamais été obtenues pour une composition protéique de pois classique.

15 Une première famille de produits conformes à l'invention est constituée par des compositions de protéines de pois, qui présentent de préférence un profil de distribution des poids moléculaires qui est constitué de :

- 20 - 25 à 35 % de protéines de plus de 15.000 et d'au plus 100.000 Da,
- 20 à 30 % de protéines de plus de 5.000 et d'au plus 15.000 Da,
- et de 40 à 45 % de protéines d'au plus 5.000 Da,
- 25 - une teneur en protéines solubles, déterminée selon un test de mesure de la solubilité dans l'eau des protéines, comprise entre 60 à 65 %.

Par ailleurs, cette composition est caractérisée en ce que sa solubilité aqueuse est :

- 30 - comprise entre 10 et 13,5 % à pH 4,
- comprise entre 40 à 45 % à pH 6.

Une seconde famille de produits conformes à l'invention est constituée par des compositions de protéines de pois, qui présentent de préférence un profil
35 de distribution des poids moléculaires qui est constitué de :

- 50 à 55 % de protéines de plus de 15.000 et d'au plus 100.000 Da,
- 15 à 20 % de protéines de plus de 5.000 et d'au plus 15.000 Da,
- 5 - et de 25 à 30 % de protéines d'au plus de 5.000 Da,

- une teneur en protéines solubles, déterminée selon un test de mesure de la solubilité dans l'eau des protéines totales, comprise entre 20 à 55 %.

10 Par ailleurs, cette composition est caractérisée en ce que sa solubilité aqueuse est :

- comprise entre 10 et 20 % à pH 4,
- comprise entre 20 à 35 % à pH 6.

La composition protéique conforme à l'invention est
15 susceptible d'être obtenue en mettant en œuvre les étapes suivantes.

L'extraction des composants de la farine de pois peut être réalisée par tout moyen et en particulier selon le procédé décrit dans la demande de brevet EP 1.400.537 dont
20 la société Demanderesse est titulaire.

Plus particulièrement ce procédé consiste dans la succession des étapes suivantes :

- préparer une farine par broyage de pois secs préalablement nettoyés, triés, émondés, dépoussiérés,
- 25 - mettre en suspension la farine de pois dans de l'eau,
- fractionner ladite suspension de manière à isoler une fraction riche en protéines,
- isoler la composante protéique de ladite fraction
30 par une technique de floculation thermique au pH isoélectrique desdites protéines et à une température comprise entre 40 et 70°C pendant de 10 à 30 minutes,
- centrifuger le mélange précipité à l'aide d'une décanteuse centrifuge de manière à récupérer les protéines
35 solubles dans le précipité,

- diluer le précipité dans de l'eau pour obtenir une matière sèche comprise entre 5 et 15 %,

- rectifier le pH de la solution à une valeur comprise entre 7 et 7,5,

5 - éventuellement, traiter thermiquement ledit précipité remis en suspension dans de l'eau à une température de 75 à 95°C pendant de 10 minutes à 1 heure,

- récupérer et sécher la composition protéique ainsi obtenue.

10 Dans une première étape du procédé conforme à l'invention, la farine obtenue à partir de pois préalablement nettoyés, triés, émondés, dépoussiérés et broyés est mise en suspension dans de l'eau.

Le pH de la solution n'est pas un facteur limitant,
15 mais on choisit de ne pas rectifier le pH de la suspension, ce qui conduit à travailler dans une gamme de pH compris entre 6,2 et 7.

De manière avantageuse, la société Demanderesse recommande de placer la farine dans de l'eau à une
20 température comprise entre 5 et 20°C, de préférence de l'ordre de 15°C, refroidie de manière à limiter le développement de bactéries indésirables.

Bien que cela ne soit pas indispensable, il peut être choisi de laisser diffuser la suspension dans ce milieu
25 aqueux pendant un temps court compris entre 5 min et 2 heures, à cette température comprise de 5 à 20°C, de préférence de l'ordre de 15°C, préférentiellement à température ambiante.

Dans une deuxième étape du procédé conforme à
30 l'invention, on choisit de fractionner ladite suspension de farine dans l'eau par tout moyen connu par ailleurs de l'homme du métier de manière à isoler une fraction riche en protéines.

On peut utiliser alors un équipement choisi dans le
35 groupe constitué des hydrocyclones et des décanteurs centrifuges.

Dans un premier mode préféré de réalisation, le fractionnement de la suspension de farine dans l'eau consiste à fractionner ladite suspension sur des décanteurs centrifuges, de manière à isoler une fraction riche en protéines et solubles d'une fraction constituée du mélange amidon et fibres internes.

Dans un deuxième mode préféré de réalisation, le fractionnement de la suspension de farine dans l'eau consiste à fractionner ladite suspension sur des hydrocyclones, de manière à isoler une fraction riche en amidon d'une fraction constituée du mélange protéines, fibres internes et solubles, puis à traiter la fraction constituée du mélange de protéines, de fibres internes et solubles sur des décanteurs centrifuges de manière à séparer une fraction riche en fibres internes d'une fraction riche en protéines et solubles.

Dans une troisième étape du procédé conforme à l'invention, on isole les protéines de la fraction renfermant le mélange de protéines et de solubles ainsi obtenu (que ce soit par le premier ou le deuxième mode préféré), par une technique choisie dans le groupe des techniques de précipitation des protéines à leur pH isoélectrique et des techniques de séparation membranaire de type ultrafiltration.

Il est avantageusement choisi de réaliser la floculation thermique des protéines, en ajustant la fraction riche en protéines à une valeur de pH correspondant au point isoélectrique (pI) des dites protéines, i.e. à une valeur de pH de l'ordre de 4,5.

On procède ensuite à la floculation desdites protéines à une température comprise entre 40 et 70°C pendant de 10 à 30 minutes.

Ce diagramme temps/température de floculation permet ainsi d'obtenir un rendement de récupération des protéines compris entre 65 et 85 % de protéines extraites / protéines totales.

La séparation du précipité (encore appelé « floc ») renfermant les protéines solubles s'effectue sur décanteur centrifuge.

Le floc est ensuite dilué jusqu'à une matière sèche
5 comprise entre 5 et 15 % afin de permettre son acheminement vers les installations d'atomisation pour être séché et conditionné.

Le pH est rectifié de manière à obtenir une valeur comprise entre 7 et 7,5.

10 Cette atomisation est réalisée dans des conditions classiques, bien connue de l'homme du métier.

Pour sécher le produit, on choisit avantagement de procéder à une atomisation sur une tour de type simple effet à buse d'air comprimé, dans les conditions
15 suivantes :

- température de l'air de séchage : 130 à 180°C
- température des buées : 80 à 90°C
- capacité d'évaporation : 15 à 25 l/h
- pression : 0,5 à 2 bars

20 Le traitement de floculation thermique de la fraction riche en protéines et solubles puis de séchage par atomisation permet l'obtention d'une composition protéique conforme à l'invention présentant un profil de distribution des poids moléculaires qui est constitué de :

- 25
- 25 à 35 % de protéines de plus de 15.000 et d'au plus de 100.000 Da,
 - 20 à 30 % de protéines de plus de 5.000 et d'au plus de 15.000 Da,
 - et de 40 à 45 % de protéines d'au plus de
30 5.000 Da,

- une teneur en protéines solubles, exprimées selon un test de mesure de la solubilité dans l'eau des protéines totales, comprise entre 60 à 65 %.

Par ailleurs, cette composition est caractérisée en ce que sa solubilité aqueuse est :

- comprise entre 10 et 13,5 % à pH 4,
- comprise entre 40 à 45 % à pH 6.

5 Un traitement thermique complémentaire peut être réalisé avant l'étape de séchage par atomisation, après l'étape de floculation thermique, de dilution puis de rectification de pH du floc obtenu, traitement effectué à une température de 75 à 95 °C pendant de 10 minutes à
10 1 heure

Ce traitement thermique l'obtention d'une composition protéique conforme à l'invention présentant un profil de distribution des poids moléculaires qui est constitué de :

- 50 à 55 % de protéines de plus de 15.000 et d'au
15 plus de 100.000 Da,
- 15 à 20 % de protéines de plus de 5.000 et d'au plus de 15.000 Da,
- et de 25 à 30 % de protéines d'au plus de 5.000 Da,
- 20 - une teneur en protéines solubles, exprimées selon un test de mesure de la solubilité dans l'eau des protéines, comprise entre 20 à 55 %.

Par ailleurs, cette composition est caractérisée en ce que sa solubilité aqueuse est :

- 25 - comprise entre 10 et 20 % à pH 4,
- comprise entre 20 à 35 % à pH 6.

Si ce deuxième traitement thermique permet d'augmenter de manière significative la viscosité de la composition protéique ainsi obtenue, il conduit également à
30 une diminution significative de l'activité anti-trypsique de ladite composition, tout en réduisant quelque peu sa solubilité dans l'eau, comme il sera exemplifié ci-après.

La composition de protéines de pois ainsi obtenue présente de remarquables propriétés de solubilité dans
35 l'eau, mais également d'excellentes propriétés de rétention d'eau, et de pouvoir émulsifiant et gélifiant.

Ceci qui les destine à des applications alimentaires, notamment en charcuterie, plus particulièrement dans les secteurs des pâtes fines et des saumures.

La composition de protéines de pois selon l'invention
5 qui présente un profil de distribution des poids moléculaires qui est constitué de :

- 25 à 35 % de protéines de plus de 15.000 et d'au plus de 100.000 Da,
- 20 à 30 % de protéines de plus de 5.000 et d'au
10 plus de 15.000 Da,
- et de 40 à 45 % de protéines d'au plus de 5.000 Da,

et une teneur en protéines solubles, exprimées selon un test A compris entre 60 à 65 %,

15 et

par ailleurs, une solubilité aqueuse :

- comprise entre 10 et 13,5 % à pH 4,
- comprise entre 40 à 45 % à pH 6,

peut être avantageusement utilisée dans le secteur
20 des saumures, notamment dans la fabrication des jambons.

Quant à la composition de protéines de pois selon l'invention, qui présente un profil de distribution des poids moléculaires qui est constitué de :

- 50 à 55 % de protéines de 15.000 à 100.000 Da,
- 25 - 15 à 20 % de protéines de 5.000 à 15.000 Da,
- et de 25 à 30 % de protéines de moins de 5.000 Da,

et une teneur en protéines solubles, exprimées selon un test A compris entre 20 à 55 %,

30 et par ailleurs, une solubilité aqueuse :

- comprise entre 10 et 20 % à pH 4,
- comprise entre 20 à 35 % à pH 6,

peut être avantageusement utilisée dans le secteur des pâtes fines.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront à la lecture des exemples non limitatifs décrits ci-dessous.

5 **Exemple 1**

De la farine de pois est préparée par broyage de pois fourragers décortiqués sur broyeur à marteaux de type ALPINE équipé d'une grille de 100 μ m.

10 300 kg de farine à 87 % de matière sèche sont ensuite mis à tremper dans de l'eau à la concentration finale de 25 % sur sec, à un pH de 6,5.

1044 kg de suspension de farine à 25 % de matière sèche (soit donc 261 kg de farine sèche) sont alors
15 introduits avec 500 kg d'eau dans une batterie d'hydrocyclones de 14 étages, alimentée par la suspension de farine à l'étage n°5.

Cette séparation conduit à l'obtention d'une phase légère qui correspond à la sortie de l'étage n°1.

20 Elle est constituée du mélange protéines, fibres internes et solubles.

Cette phase légère en sortie d'hydrocyclones renferme en mélange (142 kg sur sec au total) : les fibres (environ 14,8 % en poids, soit 21 kg sec), les protéines (environ
25 42,8 % en poids, soit 60,8 kg sec) et de solubles (environ 42,4 % en poids, soit 60,2 kg sec). Cette fraction présente une matière sèche de 10 %.

On procède à la séparation des fibres sur décanteurs centrifuges de type WESPHALIA.

30 La phase légère en sortie de décanteur centrifuge renferme un mélange de protéines et de solubles, tandis que la phase lourde renferme les fibres de pois.

La phase lourde renferme 105 kg de fibres à 20 % de matière sèche.

On constate que la quasi-totalité des fibres est bien retrouvée dans cette fraction.

5 Quant à la fraction protéines et solubles, elle renferme 1142 kg d'un mélange en solution de solubles et de protéines (fraction à 6 % de matière sèche).

On procède à la floculation des protéines à leur point isoélectrique par ajustement de la phase légère en
10 sortie de décanteur centrifuge à un pH de 4,5 et chauffage à 60 °C par passage en tuyère.

Les protéines ainsi mises à floculer sont laissées 10 minutes en cuve de maturation.

On procède ensuite à la séparation
15 solubles / protéines sur décanteur centrifuge.

Le mélange obtenu en sortie de la cuve de maturation alimente alors la décanteuse centrifuge à un débit de 0,5 m³/h.

La phase lourde, ou « floc », d'une matière sèche de
20 35 % est diluée à 10 % par ajout d'eau.

Le pH du floc de 4,5 est rectifié à une valeur de 7,5 par ajout de soude.

On procède enfin à une atomisation sur tour de type simple effet à buse à air comprimé pour sécher le produit,
25 dans les conditions suivantes :

- température de l'air de séchage : 150°C
- température des buées : 85°C
- capacité d'évaporation : 20 l/h
- pression : 1 bar

30 L'ensemble de ces opérations permet l'obtention d'une première composition protéique conforme à l'invention

présentant les caractéristiques figurées dans le tableau I
suivant.

Tableau I

	Composition protéique I
Teneur en protéines totales (% N x 6,25)	81,4
Teneur en protéines solubles (% N x 6,25)	64
Profil des poids moléculaires (%) :	
100.000 Da	2
15.000 et < 100.000 Da	30
5.000 et < 15.000 Da	26,5
< 5.000 Da	42
Solubilité aqueuse à pH 4 (% N x 6,25)	13,2
Solubilité aqueuse à pH 6 (% N x 6,25)	43
Matières grasses extractibles (%)	1,2
Activités anti-trypsiques (TIU/mg)	5,4

Cette composition protéique, appartenant à la première famille de compositions protéiques conforme à l'invention, présente une richesse en protéines totales supérieure à 80 %, dont plus de 60 % sont solubles dans l'eau (78.6% si exprimé en % des protéines totales).

On peut procéder, sur le floc obtenu à l'étape du procédé décrit ci-dessus, à un traitement thermique à 85°C pendant 10 minutes sur échangeur thermique à surface raclée, puis on atomise selon le protocole présenté ci-avant.

L'ensemble de ces opérations permet l'obtention d'une seconde composition protéique conforme à l'invention présentant les caractéristiques figurées dans le tableau II suivant.

5 Tableau II

	Composition protéique II
Teneur en protéines totales (% N x 6,25)	70,4
Teneur en protéines solubles (% N x 6,25)	53
Profil des poids moléculaires (%) :	
100.000 Da	2,5
15.000 et < 100.000 Da	53
5.000 et < 15.000 Da	17
< 5.000 Da	28
Solubilité aqueuse à pH 4 (% N x 6,25)	14,8
Solubilité aqueuse à pH 6 (% N x 6,25)	33,3
Matières grasses extractibles (%)	1
Activités anti-trypsiques (TIU/mg)	2,5

Cette composition protéique appartenant à la première famille de compositions protéiques conforme à l'invention, présente une richesse en protéines totales supérieure à 70
10 %, dont plus de 50 % sont solubles dans l'eau.

Le deuxième traitement thermique permet de diminuer encore la quantité de facteurs anti-trypsiques (d'un facteur 2) et conduit à une composition protéique de

solubilité plus réduite à pH 6,5 (alors que la solubilité à une valeur de pH proche du pHi reste du même ordre de grandeur).

5 Exemple 2

Les compositions protéiques conformes à l'invention préparées en appliquant le procédé décrit dans l'exemple 1 sont comparées, dans le tableau III suivant, à des
10 compositions protéiques connues par ailleurs.

Tableau III

	PISANE® HD COSUCRA	PROPULSE™ PARRHEIM	Composition protéique I	Composition protéique II
Teneur en protéines totales (% N x 6,25)	81,5	77,2	81,4	70,4
Teneur en protéines solubles (% N x 6,25)	16	15,2	64	53
Profil des poids moléculaires (%) : 100.000 Da 15.000 et < 100.000 Da 5.000 et < 15.000 Da < 5.000 Da	3 48 29 20	4 54 20 22	2 30 26,5 42	2,5 53 17 28
Solubilité aqueuse à pH 4	9,4	15,8	13,2	14,8

(% N x 6,25)				
Solubilité aqueuse à pH 6 (% N x 6,25)	17,9	20,1	43	33,3
Matières grasses extractibles (%)	1,1	1,3	1,2	1
Activités anti- trypsiques (TIU/mg)	3,4	5	5 - 5,5	2,5

Les compositions protéiques conformes à l'invention présentent un profil de distribution des poids moléculaires tout à fait particulier, différent pour les deux familles,
5 par rapport aux compositions protéiques du commerce.

La première famille conforme à l'invention est caractérisée par un spectre tri-modal où plus de 45 % des protéines présentent un poids d'au plus de 5.000 Da, et où les protéines de poids moléculaire de plus de 5.000 et d'au
10 plus de 15.000 Da et celles de poids moléculaire de plus de 15.000 et d'au plus de 100.000 Da sont en égale proportion, i.e. voisine de 25 à 30 %.

Aucune des compositions protéiques connues ne présentent un tel profil.

15 La seconde famille conforme à l'invention présente également un spectre tri-modal, où cette fois plus de 50 % des protéines ont un poids moléculaire de plus de 15.000 et d'au plus de 100.000 Da, le reste des protéines se répartissant en proportion égale dans les intervalles de
20 plus de 5.000 et d'au plus de 15.000 Da d'une part, et d'au plus de 5.000 Da d'autre part.

Ce profil de distribution des poids moléculaires est plus typique des compositions de protéines de pois du commerce, mais aucune d'entre elles ne présente une telle
25 solubilité.

La teneur en matières grasses extractibles et celle en facteurs anti-trypsiques rendent les compositions conformes à l'invention parfaitement adaptées aux applications en alimentation humaine et animale.

REVENDICATIONS

1. Composition de protéines de pois, caractérisée en ce qu'elle présente :

5 - une teneur en protéines sur matière sèche d'au moins 60 % en poids, de préférence comprise entre 60 et 95 % en poids,

 - un profil de distribution des poids moléculaires constitué de :

10 - 1,5 à 3 % de protéines de plus de 100.000 Da,
 - 25 à 55 % de protéines de plus de 15.000 et d'au plus de 100.000 Da,
 - 15 à 30 % de protéines de plus de 5.000 et d'au plus de 15.000 Da,
15 - et de 25 à 45 % de protéines d'au plus de 5.000 Da,

 - une teneur en protéines solubles, exprimée selon un test de mesure de la solubilité dans l'eau des protéines, comprise entre 20 et 65 %.

20 2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que sa solubilité aqueuse est :

 - comprise entre 10 et 20 % à pH 4,
 - comprise entre 20 à 45 % à pH 6.

 3. Composition selon l'une ou l'autre des
25 revendications 1 et 2, caractérisée en ce que sa teneur en matières grasses extractibles est comprise entre 0,3 et 5 %, de préférence comprise entre 0,3 et 1,5 % en poids.

 4. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que sa teneur en
30 facteurs anti-trypsiques est comprise entre 2 et 5,5 TIU/mg.

 5. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce qu'elle présente un profil de distribution des poids moléculaires constitué
35 de :

- 25 à 35 % de protéines de plus de 15.000 et d'au plus de 100.000 Da,
- 20 à 30 % de protéines de plus de 5.000 et d'au plus de 15.000 Da,
- 5 - et de 40 à 45 % de protéines d'au plus de 5.000 Da,

- une teneur en protéines solubles, exprimée selon un test de mesure de la solubilité dans l'eau des protéines, comprise entre 60 à 65 %.

10 **6.** Composition selon la revendication 5, caractérisée en ce que sa solubilité aqueuse est :

- comprise entre 10 et 13,5 % à pH 4,
- comprise entre 40 à 45 % à pH 6.

15 **7.** Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce qu'elle présente un profil de distribution des poids moléculaires constitué de :

- 50 à 55 % de protéines de plus de 15.000 et d'au plus de 100.000 Da,
- 20 - 15 à 20 % de protéines de plus de 5.000 et d'au plus de 15.000 Da,
- et de 25 à 30 % de protéines d'au plus de 5.000 Da,
- une teneur en protéines solubles, exprimée selon un test A, comprise entre 20 à 55 %.

25 **8.** Composition selon la revendication 7, caractérisée en ce que sa solubilité aqueuse est :

- comprise entre 10 et 20 % à pH 4,
- comprise entre 20 à 35 % à pH 6.

30 **9.** Procédé de fabrication de la composition de protéines de pois selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce qu'il consiste dans la succession des étapes suivantes :

- préparer une farine par broyage de pois secs préalablement nettoyés, triés, émondés, dépoussiérés,
- 35 - mettre en suspension la farine de pois dans de l'eau,

- fractionner ladite suspension, de manière à isoler une fraction riche en protéines et en solubles,

- isoler la composante protéique de ladite fraction riche en protéines et en solubles par une technique de
5 floculation thermique au pH isoélectrique desdites protéines et à une température comprise entre 40 et 70°C pendant de 10 à 30 minutes,

- centrifuger le mélange précipité à l'aide d'une décanseuse centrifuge de manière à récupérer les protéines
10 solubles dans le précipité,

- diluer le précipité dans de l'eau pour obtenir une matière sèche comprise entre 5 et 15 %,

- rectifier le pH de la solution à une valeur comprise entre 7 et 7,5,

15 - éventuellement, traiter thermiquement ledit précipité remis en suspension dans de l'eau à une température de 75 à 95°C pendant de 10 minutes à 1 heure,

- récupérer et sécher la composition protéique ainsi obtenue.

20 **10.** Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que l'étape de fractionnement de la suspension de farine de pois dans de l'eau est réalisée à l'aide d'un équipement choisi dans le groupe constitué des hydrocyclones et des décanseurs centrifuges.

25 **11.** Procédé selon la revendication 10, caractérisé en ce que la fraction riche en protéines et solubles est obtenue par les étapes consistant à :

- fractionner la suspension de farine dans l'eau sur des décanseurs centrifuges, de manière à isoler une
30 fraction riche en protéines et solubles d'une fraction constituée du mélange amidon et fibres internes,

- récupérer la fraction riche en protéines et solubles dans le surnageant des décanseurs centrifuges.

35 **12.** Procédé selon la revendication 10, caractérisé en ce que la fraction riche en protéines et solubles est obtenue par les étapes consistant à :

- fractionner la suspension de farine dans l'eau sur des hydrocyclones, de manière à isoler une fraction riche en amidon d'une fraction constituée du mélange protéines, fibres internes et solubles,

5 - traiter la fraction constituée du mélange de protéines, de fibres internes et solubles sur des décanteurs centrifuges de manière à séparer une fraction riche en fibres internes d'une fraction riche en protéines et solubles,

10 - récupérer la fraction riche en protéines et solubles dans le surnageant des décanteurs centrifuges.

13. Procédé de fabrication de la composition de protéines de pois selon l'une ou l'autre des revendications 5 et 6, caractérisé en ce qu'il consiste dans la succession
15 des étapes suivantes :

- préparer une farine par broyage de pois secs préalablement nettoyés, triés, émondés, dépoussiérés,

- mettre en suspension la farine de pois dans de l'eau,

20 - fractionner ladite suspension, de manière à isoler une fraction riche en protéines et en solubles,

- isoler la composante protéique de ladite fraction riche en protéines et en solubles par une technique de floculation thermique au pH isoélectrique desdites
25 protéines et à une température de 60°C pendant 10 minutes,

- diluer le précipité dans de l'eau pour obtenir une matière sèche comprise entre 5 et 15 %,

- rectifier le pH de la solution à une valeur comprise entre 7 et 7,5,

30 - récupérer et éventuellement sécher la composition protéique ainsi obtenue.

14. Procédé de fabrication de la composition de protéines de pois selon l'une ou l'autre des revendications 7 et 8, caractérisé en ce qu'il consiste dans la succession
35 des étapes suivantes :

- préparer une farine par broyage de pois secs préalablement nettoyés, triés, émondés, dépoussiérés,
- mettre en suspension la farine de pois dans de l'eau,
- 5 - fractionner ladite suspension, de manière à isoler une fraction riche en protéines et en solubles,
- isoler la composante protéique de ladite fraction riche en protéines et en solubles par une technique de floculation thermique au pH isoélectrique desdites
- 10 protéines et à une température de 60°C pendant 10 minutes,
- centrifuger le mélange précipité à l'aide d'une décanteuse centrifuge de manière à récupérer les protéines solubles dans le précipité,
- diluer le précipité dans de l'eau pour obtenir une
- 15 matière sèche comprise entre 5 et 15 %,
- rectifier le pH de la solution à une valeur comprise entre 7 et 7,5,
- traiter thermiquement ledit précipité remis en suspension dans de l'eau à une température de 85°C pendant
- 20 10 minutes,
- récupérer et sécher la composition protéique ainsi obtenue.

15. Utilisation de la composition selon les revendications 1 à 8 ou susceptible d'être obtenue selon le

25 procédé des revendications 9 à 14 dans des applications alimentaires, notamment en charcuterie, plus particulièrement dans les secteurs des pâtes fines et des saumures.

16. Utilisation de la composition selon les

30 revendications 5 et 6 ou susceptible d'être obtenue selon le procédé de la revendication 13 dans des applications alimentaires, notamment en charcuterie, plus particulièrement dans les secteurs des saumures.

17. Utilisation de la composition selon les

35 revendications 7 et 8 ou susceptible d'être obtenue selon le procédé de la revendication 14 dans des applications

alimentaires, notamment en charcuterie, plus
particulièrement dans les secteurs des pâtes fines.



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

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

N° d'enregistrement
national

FA 669316
FR 0508398

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	US 2004/091600 A1 (SALOME JEAN-PAUL ET AL) 13 mai 2004 (2004-05-13) * page 1, alinéa 1 * * page 4, alinéa 97 - page 5, alinéa 108 * * page 5 - page 6; exemple 1 * -----	1-14	A23J1/14 A23J3/14 A23L1/16 A23L1/305
X	DD 214 527 A1 (AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN DER DDR, DD) 17 octobre 1984 (1984-10-17) * page 1, alinéa 1 * * page 5, ligne 25 - ligne 31 * * page 7 - page 8; exemple 1 * -----	1-14	
X	US 5 658 714 A (WESTFALL ET AL) 19 août 1997 (1997-08-19) * colonne 1, ligne 8 - ligne 11 * * colonne 8, ligne 28 - ligne 38 * * colonne 10, ligne 26 - ligne 49 * * colonne 15 - colonne 16; revendications 1,9 * -----	1-14	
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 199646 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D13, AN 1996-462955 XP002380067 & RU 2 054 265 C1 (BOGRACHEVA T YA) 20 février 1996 (1996-02-20) * abrégé * -----	1-14	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) A23J
X	US 4 563 360 A (SOUCIE ET AL) 7 janvier 1986 (1986-01-07) * colonne 2, ligne 22 - colonne 3, ligne 10 * -----	1,15-17	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
15 mai 2006		Inceisa, L	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE**RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0508398 FA 669316**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **15-05-2006**

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2004091600 A1	13-05-2004	AU 2003246327 A1	01-04-2004
		CA 2442940 A1	18-03-2004
		CN 1494833 A	12-05-2004
		EP 1400537 A1	24-03-2004
		FR 2844515 A1	19-03-2004
		PL 362271 A1	22-03-2004
DD 214527 A1	17-10-1984	AUCUN	
US 5658714 A	19-08-1997	CA 2060973 A1	29-08-1992
		DE 69207228 D1	15-02-1996
		DE 69207228 T2	04-07-1996
		EP 0501117 A1	02-09-1992
		IE 914558 A1	09-09-1992
RU 2054265 C1	20-02-1996	AUCUN	
US 4563360 A	07-01-1986	CA 1220071 A1	07-04-1987
		DE 3447715 A1	11-07-1985
		FR 2557431 A1	05-07-1985
		GB 2154420 A	11-09-1985
		JP 1925621 C	25-04-1995
		JP 6053041 B	20-07-1994
		JP 60176548 A	10-09-1985