

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



WIPO | PCT



(10) Numéro de publication internationale
WO 2019/068998 A1

(43) Date de la publication internationale
11 avril 2019 (11.04.2019)

(51) Classification internationale des brevets :

A23L 11/30 (2016.01) A23J 3/14 (2006.01)
A23J 1/14 (2006.01) A23L 33/185 (2016.01)

Publiée:

- avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues (règle 48.2(h))

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2018/052403

(22) Date de dépôt international :

01 octobre 2018 (01.10.2018)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

17 59287 04 octobre 2017 (04.10.2017) FR

(71) Déposant : **ROQUETTE FRERES** [FR/FR] ; 1 rue de la Haute Loge, 62136 Lestrem (FR).

(72) Inventeurs : **LECOQ, Aline** ; 62 rue Négrier, 59420 Mouvaux (FR). **IBERT, Mathias** ; 11, rue Jules Verne, 59930 La Chapelle D'armentieres (FR).

(74) Mandataire : **CABINET PLASSERAUD** ; 66 rue de la Chaussée d'Antin, 75440 Paris Cedex 09 (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasiatique (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: PEA PROTEIN COMPOSITION HAVING IMPROVED NUTRITIONAL QUALITY

(54) Titre : COMPOSITION DE PROTÉINES DE POIS A QUALITÉ NUTRITIONNELLE AMÉLIORÉE

(57) Abstract: The present invention relates to a pea protein composition the nutritional quality, and in particular the PDCAAS, of which is improved, as well as to a method for preparing same and to the use of this composition in a food or pharmaceutical composition.

(57) Abrégé : La présente invention a pour objet une composition de protéines de pois dont la qualité nutritionnelle, en particulier son PDCAAS, est améliorée, son procédé de préparation ainsi que l'utilisation de cette composition dans une composition alimentaire ou pharmaceutique.



WO 2019/068998 A1

COMPOSITION DE PROTÉINES DE POIS A QUALITÉ NUTRITIONNELLE AMÉLIORÉEDOMAINE DE L'INVENTION

La présente invention a pour objet une composition de protéines de pois dont la qualité nutritionnelle, en particulier son PDCAAS, est améliorée, son procédé de préparation ainsi que l'utilisation de
5 cette composition dans une composition alimentaire ou pharmaceutique.

ART ANTÉRIEUR

Les besoins quotidiens de protéines sont compris entre 12 et 20% de la ration alimentaire. Ces protéines sont fournies aussi bien par des produits d'origine animale (viandes, poissons, œufs, produits
10 laitiers) que par des aliments végétaux (céréales, légumineuses, algues).

Cependant, dans les pays industrialisés, les apports en protéines sont majoritairement sous la forme de protéines d'origine animale. Or, de nombreuses études démontrent qu'une consommation
15 excessive de protéines d'origine animale au détriment des protéines végétales est une des causes d'augmentation de cancers et maladies cardio-vasculaires.

Par ailleurs, les protéines animales présentent beaucoup de désavantages, tant sur le plan de leur allergénicité, concernant
20 notamment les protéines issues du lait ou des œufs, que sur le plan environnemental en relation avec les méfaits de l'élevage intensif.

Ainsi, il existe une demande croissante des industriels pour des protéines d'origine végétale possédant des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles intéressantes sans pour autant
25 présenter les inconvénients des composés d'origine animale.

Depuis les années 70, le pois est la légumineuse à graines qui s'est le plus développée en Europe et majoritairement en France, notamment comme ressource protéique pour l'alimentation animale mais aussi humaine. Le pois contient environ 27 % en poids de protéines.
30 Le terme « pois » est ici considéré dans son acception la plus large et inclut en particulier toutes les variétés sauvages de « pois

lisse » (« smooth pea »), et toutes les variétés mutantes de « pois lisse » et de « pois ridé » (« wrinkled pea »), et ce quelles que soient les utilisations auxquelles on destine généralement lesdites variétés (alimentation humaine, nutrition animale et/ou autres utilisations).

Malgré leurs qualités indéniables, les protéines du pois souffrent d'un pouvoir nutritionnel en deçà des protéines animales et de soja. En effet, plusieurs études ont démontré que leur PDCAAS est inférieur à 1 (voir par exemple « Aliments à base de soja - source de protéines de haute qualité », ENSA, Aout 2015). Le PDCAAS, ou score en acides aminés corrigé de la digestibilité des protéines, sert à évaluer la qualité des protéines en fonction de deux critères : les besoins en acides aminés essentiels de l'homme et la digestibilité des protéines. Depuis 1989, l'OMS et la FAO conseillent d'utiliser cette méthode pour déterminer la qualité des protéines. Il est admis qu'une protéine parfaite d'un point de vue nutritionnel doit y obtenir un score de 1 (ou 100% selon l'expression du résultat).

De nombreux travaux et études ont essayé de pallier à cette lacune de la protéine de pois. Le PDCAAS inférieur à 1 est dû en partie au moins à la présence de facteurs antinutritionnels co-extraits avec la protéine de pois. On peut citer, par exemple les facteurs anti-trypsiques qui, en inhibant la trypsine digestive, perturbent la digestion de la protéine. La Demanderesse a donc développé un procédé de préparation d'une composition de protéines de pois comprenant majoritairement des globulines et ayant une faible teneur en facteurs antinutritionnels (voir WO2007017572). Le PDCAAS de cette composition est nettement amélioré en atteignant une valeur de 93% (ou 0,93) (voir « Vegetable Protein : A winner ? », C.Lefranc-Millot, 2014). Afin d'atteindre la valeur PDCAAS de 1, une solution bien connue consiste à ajouter à cette composition un mélange de protéines extraites du blé (voir toujours dans « Vegetable Protein : A winner ? », C.Lefranc-Millot, 2014). Cette solution élégante présente néanmoins plusieurs désavantages, tels

que la nécessité d'enchaîner plusieurs étapes afin d'obtenir la protéine désirée et l'utilisation de protéines de blé susceptibles de contenir des traces de gluten.

De plus, si l'on peut envisager l'obtention d'une protéine avec un PDCAAS de 1 par mélange de protéines autre que le pois, on obtient un mélange perdant les propriétés fonctionnelles de la dite protéine de pois, en particulier son pouvoir émulsifiant. La conservation d'un pouvoir émulsifiant, tout en augmentant son PDCAAS, afin de pouvoir facilement être formulées dans des recettes alimentaires est un requis majeur pour certaines applications industrielles, en particulier dans les domaines alimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

Il existe donc toujours un besoin non satisfait d'une protéine extraite uniquement du pois dont la qualité nutritionnelle est équivalente à celles des protéines animales et dont les propriétés fonctionnelles, en particulier son activité émulsifiante, restent élevées

Il est du mérite de la Demanderesse d'avoir entrepris des travaux pour répondre à ces besoins et d'avoir élaboré la présente invention. En particulier, la Demanderesse a mis au point une composition ayant un PDCAAS de 1 comprenant uniquement des protéines extraites du pois en mélangeant la composition protéique de la demande WO2007017572, la fraction globuline du pois, avec un extrait de pois riche en albumines. Cette solution n'aurait pas été contemplée par l'homme du métier car les extraits de pois riches en albumines présentent également une forte teneur en facteurs anti-trypsiques. Les facteurs anti-trypsiques sont des albumines de faible poids moléculaire, de 8 à 10 kDa, qui sont capables de se lier de manière irréversible aux sites actifs de la trypsine. Ils empêchent ainsi l'hydrolyse gastro-intestinale des protéines ingérées par les protéases et diminuent donc la digestibilité des protéines et leur PDCAAS. En parvenant à abaisser la teneur en facteurs anti-trypsiques d'extraits de pois riches en albumines et

en les combinant à des extraits de pois riches en globulines, la Demanderesse a pu obtenir une composition de protéines de pois ayant une excellente qualité nutritionnelle.

De plus, le mélange de la composition protéique de la demande
5 WO2007017572, la fraction globuline du pois, avec un extrait de pois riche en albumines, est réalisée :

- En utilisant un extrait de pois riche en albumines particulier en ce que son activité émulsifiante est supérieur à 600 ml d'huile par gramme de protéines, préférentiellement
10 supérieur à 800 ml d'huile par gramme de protéines, encore plus préférentiellement supérieur à 1000 ml d'huile par gramme de protéines.
- Et en réalisant ce mélange par voie humide puis en le séchant la solution ainsi obtenue, préférentiellement par atomisation.

15

DESCRIPTION DÉTAILLÉE

Un premier objet de la présente invention est une composition de protéines de pois comprenant des globulines et des albumines caractérisée en ce que l'extrait sec de la composition :

- 20 - comprend au moins 80% en poids, de préférences de 80 à 99% en poids, plus préférentiellement de 85 à 98% en poids, de 90 à 97% en poids, de 92 à 95% en poids de protéines par rapport au poids de l'extrait sec ;
- présente un ratio massique des globulines sur les albumines de
25 65/35 à 85/15, de préférence de 70/30 à 82/18, plus préférentiellement de 75/25 à 80/20.

De manière préférée, la composition est caractérisée par une activité émulsifiante supérieur à 300 ml d'huile par gramme de protéines, préférentiellement compris entre 300 et 500 ml d'huile
30 par gramme de protéines, préférentiellement entre 350 et 450.

Un second objet de la présente invention est un procédé de préparation d'une composition de protéines de pois comprenant les étapes suivantes :

- a) extraire les globulines et les albumines du pois pour obtenir une fraction protéique ;
- b) séparer les globulines des albumines pour obtenir une fraction enrichie en globulines et une fraction enrichie en albumines ;
- c) réduire la teneur en facteurs anti-trypsiques de la fraction enrichie en albumines pour obtenir une fraction enrichie en albumines traitée ;
- d) ajuster le pH puis chauffer la fraction enrichie en albumines traitée pour obtenir une fraction enrichie en albumines thermisée dont l'activité émulsifiante est supérieure à 600 ml d'huile par gramme de protéines, préférentiellement supérieure à 800 ml d'huile par gramme de protéines, encore plus préférentiellement supérieure à 1000 ml d'huile par gramme de protéines;
- e) mélanger en présence d'eau la fraction enrichie en globulines et la fraction enrichie en albumines thermisée de manière à ce que l'extrait sec du mélange présente un ratio massique des globulines sur les albumines de 65/35 à 85/15, de préférence de 70/30 à 82/18, plus préférentiellement de 75/25 à 80/20.
- f) sécher la solution ainsi obtenue.

De manière préférée, l'étape d) est réalisée en ajustant le pH entre 6 et 8, préférentiellement entre 6,5 et 7,5 et en chauffant entre 130°C et 150°C, préférentiellement de 140°C, avec un temps de traitement compris entre 5 et 15 secondes, préférentiellement de 10 secondes.

De manière préférée, l'étape f) est réalisée par atomisation, préférentiellement par atomisation dite « multiple-effet »

Un troisième objet de la présente invention est l'utilisation de la composition de protéines de pois selon l'invention dans une composition alimentaire ou pharmaceutique.

Le terme « pois » doit se comprendre dans la présente demande
5 comme toutes les variétés sauvages de « pois lisse » (« smooth pea »), et toutes les variétés mutantes de « pois lisse » et de « pois ridé » (« wrinkled pea »).

Le terme « protéine » doit se comprendre dans la présente
demande comme les macromolécules formées d'une ou de plusieurs
10 chaînes polypeptidiques constituées de l'enchaînement de résidus d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. Dans le cadre particulier des protéines de pois, la présente invention concerne plus particulièrement les globulines (environ 50-60% en poids des protéines du pois) et les albumines (20-25% en poids des
15 protéines du pois). Les globulines de pois se subdivisent principalement en trois sous-familles : les légumines, les vicilines et les convicilines. Les albumines de pois se subdivisent principalement en deux familles baptisées PA1 et PA2.

Le terme « facteurs anti-trypsiques » doit se comprendre dans
20 la présente demande comme l'ensemble des composés possédant une activité inhibant les protéases digestives, en particulier la trypsine. La méthode de calcul de la teneur en facteurs anti-trypsique de la composition selon l'invention est détaillée dans les exemples de la présente demande.

Le terme « PDCAAS » doit s'entendre dans la présente invention
25 comme le Protein Digestibility Corrected Amino Acid Scoring ou Score en Acides Aminés Corrigé de la Digestibilité des Protéines. Cette méthode est la plus utilisée aujourd'hui pour estimer la qualité protéique des aliments destinés à l'alimentation humaine. Le PDCAAS
30 évalue la qualité des protéines en fonction de deux critères : les besoins en acides aminés essentiels de l'homme selon les

recommandations de la FAO et la digestibilité des protéines. Depuis 1989, l'OMS et la FAO conseillent d'utiliser cette méthode pour déterminer la qualité des protéines. Il est admis qu'une protéine parfaite d'un point de vue nutritionnel doit y obtenir un score de 1 (ou 100% selon l'expression du résultat). La méthode de calcul du PDCAAS de la composition selon l'invention est détaillée dans les exemples de la présente demande.

Le terme « activité émulsifiante » doit se comprendre comme la quantité maximale d'huile pouvant être dispersée dans une solution aqueuse contenant une quantité définie d'émulsifiant avant rupture ou inversion de phase de l'émulsion (Sherman, P., 1995. A critique of some methods proposed for evaluating the emulsifying capacity and emulsion stabilizing performance of vegetable proteins. Ital. J. Food Sci., 1: 3.). Afin de la quantifier, la Demanderesse a développé un test permettant de la quantifier aisément, rapidement et de manière reproductible. Ce terme est également bien connu sous la terminologie « Concentration Micellaire Critique » ou « CMC ».

Les différents objets de l'invention seront mieux compris dans la description détaillée de l'invention qui suit.

La composition objet de la présente invention est une composition de protéines de pois qui comprend des globulines et des albumines.

Dans tout ce qui suit, les termes « protéines » « globulines » et « albumines » désignent respectivement des protéines, des globulines et des albumines extraites uniquement du pois. Ainsi, les protéines, globulines et albumines extraites d'une source végétale autre que le pois ou d'une source animale ne sont pas englobées par ces termes. Les globulines peuvent être distingués des albumines par diverses méthodes bien connues de l'homme du métier, notamment par leur solubilité dans l'eau, les albumines étant solubles dans l'eau pure alors que les globulines sont uniquement solubles dans l'eau

salée. On peut également identifier les albumines et globulines présentes dans un mélange par électrophorèse ou chromatographie.

L'extrait sec de la composition selon l'invention comprend au moins 80% en poids, de préférences de 80 à 99% en poids, plus
5 préférentiellement de 85 à 98% en poids, de 90 à 97% en poids, de 92 à 95% en poids, de protéines par rapport au poids de l'extrait sec. Toute méthode de dosage référence pour quantifier le taux de protéines bien connue de l'homme de l'art peut être utilisée. De préférence, on réalise un dosage de l'azote total (en %/brut) et on
10 multiplie le résultat par le coefficient 6,25. Cette méthodologie bien connue dans le domaine des protéines végétales se base sur le constat que les protéines contiennent en moyenne 16% d'azote. Toute méthode de dosage de la matière sèche bien connue de l'homme du métier peut être également utilisée.

15 En outre, l'extrait sec de la composition selon l'invention présente un ratio massique des globulines sur les albumines de 65/35 à 85/15, de préférence de 70/30 à 82/18, plus préférentiellement de 75/25 à 80/20.

Selon un mode de réalisation particulier, les albumines
20 contenues dans la composition selon l'invention consistent essentiellement en des albumines de type PA1 et PA2 et des lectines. Ainsi, le pourcentage en poids des facteurs anti-trypsiques par rapport au poids des protéines de la composition selon l'invention est inférieur au pourcentage en poids des facteurs anti-trypsiques
25 par rapport au poids des protéines dans le pois à l'état naturel. De préférence, l'extrait sec de la composition selon l'invention présente une teneur en facteurs anti-trypsiques de 1 à 5 UIT/mg. La teneur en facteurs anti-trypsiques peut notamment être mesurée selon le procédé décrit ci-après.

30 Les albumines de la composition selon l'invention présentent une activité émulsifiante supérieure à 600, de préférence supérieure

à 800, plus préférentiellement supérieure à 1000 mL d'huile de maïs par gramme d'albumines.

L'activité émulsifiante est définie comme la quantité maximale d'huile pouvant être dispersée dans une solution aqueuse contenant une quantité définie d'émulsifiant avant rupture ou inversion de phase de l'émulsion (Sherman, 1995). Afin de la quantifier, la Demanderesse a développé un test permettant de la quantifier aisément, rapidement et de manière reproductible. Ce procédé consiste à mettre en œuvre les étapes suivantes :

- 10 1. 0,2 g de l'échantillon du produit est dispersée dans 20 mL d'eau ;
2. la solution est homogénéisée avec un appareil Ultraturax IKA T25 pendant 30 sec à une vitesse de 9500 tours par minute (rpm) ;
- 15 3. ajout de 20 mL d'huile de maïs commercialisée sous la dénomination AMPHORA par la Société CARGILL sous homogénéisation dans les mêmes conditions que l'étape 2 précédente ;
4. centrifugation pendant 5 minutes à 3100 g ;
- 20 a. si on obtient une bonne émulsion, on recommence le test à l'étape 1 en augmentant les quantités d'eau et d'huile de maïs de 50% ;
- b. si on obtient une mauvaise émulsion, par exemple un déphasage, on recommence le test à l'étape 1 en diminuant
- 25 les quantités d'eau et d'huile de maïs de 50%.

La quantité maximale d'huile (Q_{max} en mL) pouvant être émulsifiée est ainsi déterminée de manière itérative.

L'activité émulsifiante est donc la quantité maximale d'huile de maïs pouvant être émulsifiée par grammes de produit.

$$30 \quad \text{Activité émulsifiante} = (Q_{max} / 0,2) * 100$$

Des albumines présentant une activité émulsifiante supérieure à 600 mL d'huile de maïs par gramme d'albumines peuvent notamment être

obtenues par chauffage d'une fraction protéique comprenant des albumines tel que décrit dans l'étape d) du procédé ci-dessous.

Selon un mode de réalisation particulier, la composition selon l'invention présente un PDCAAS égal à 1 (ou 100% selon l'expression des résultats). En effet, la faible teneur en facteurs anti-trypsiniques de la composition selon l'invention lui confère une bonne digestibilité. Le ratio massique des globulines sur les albumines dans la composition selon l'invention contribue en outre à un bon équilibre des acides aminés. La présence d'albumines permet notamment d'enrichir la composition en acides aminés soufrés. Ainsi, la composition selon l'invention présente une excellente qualité nutritionnelle.

La composition selon l'invention peut notamment être obtenue par le procédé de préparation d'une composition de protéines de pois décrit ci-après.

Le procédé de préparation d'une composition de protéines de pois objet de la présente l'invention comprend une étape a) dans laquelle les globulines et les albumines sont extraites du pois pour obtenir une fraction protéique.

Selon un mode de réalisation préférentiel, dans l'étape a) les globulines et les albumines sont extraites du pois avec un procédé comprenant les étapes suivantes :

- a-i) broyer des pois ;
- a-ii) introduire les pois broyés dans une solution aqueuse pour obtenir une phase solide A en suspension dans une phase liquide B ; et
- a-iii) séparer la phase liquide B, correspondant à la fraction protéique, de la phase solide A.

Un tel procédé est notamment décrit dans la demande de brevet EP1400537.

Les pois mis en œuvre dans l'étape a-i) auront pu subir au préalable des étapes bien connues de l'homme du métier, telles que notamment un nettoyage (élimination des particules non désirées telles que pierres, insectes morts, résidus de terre, etc.) ou bien encore l'élimination des fibres externes du pois (enveloppe externe
5 cellulósique) par une étape bien connue appelée « dehulling ».

Dans l'étape a-i), les pois peuvent être broyés en absence d'eau (procédé dit de « broyage à sec »). Selon un mode de réalisation alternatif, les pois peuvent être broyés en présence
10 d'eau (procédé dit de « broyage humide »). Dans ce cas, l'étape a-ii) n'est pas mise en œuvre puisqu'on obtient directement une phase solide A en suspension dans une phase liquide B à l'issue de l'étape de broyage humide.

Dans l'étape a-ii), le pH de la solution aqueuse peut notamment
15 être compris entre 6,2 et 7 et la température de la solution aqueuse peut notamment être comprise entre 5 et 20°C.

L'étape a-iii) permet de séparer la phase liquide B de la phase solide A. La phase liquide B correspond à la fraction protéique et est également appelée « fraction soluble ». Elle contient les
20 protéines, en particulier les globulines et les albumines, ainsi que d'autres composés solubles dans la phase aqueuse, en particulier, des sels, des acides aminés et des glucides. La phase solide A contient quant à elle les fibres de pois et de l'amidon.

De préférence, la phase liquide B et la phase solide A sont
25 séparées par fractionnement. La séparation par fractionnement peut notamment être réalisée au moyen de décanteurs centrifuges ou d'hydrocyclones.

Le procédé selon l'invention comprend une étape b) dans laquelle les globulines et les albumines sont séparées pour obtenir
30 une fraction enrichie en globulines et une fraction enrichie en albumines.

Par « fraction enrichie en globulines » et « fraction enrichie en albumines », on entend une fraction ayant un pourcentage en poids de globulines, respectivement d'albumines, par rapport au poids des protéines dans ladite fraction qui est supérieur au pourcentage en poids de globulines, respectivement d'albumines, par rapport au poids des protéines dans le pois à l'état naturel. L'enrichissement correspond donc au pourcentage d'augmentation de la proportion de globulines, respectivement d'albumines, entre le pois à l'état naturel et la fraction enrichie. En particulier, l'enrichissement de la fraction enrichie est d'au moins 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, ou 50% par rapport au pois à l'état naturel. L'enrichissement peut notamment être obtenu par purification et/ou concentration des fractions protéiques d'intérêt en globulines et en albumines. Ces fractions, selon le procédé appliqué, peuvent se présenter sous forme hydratée ou sèche.

L'étape b) peut notamment être mise en œuvre par précipitation des protéines à leur pH isoélectrique ou par séparation membranaire, par exemple par ultrafiltration.

Selon un mode de réalisation préférentiel, dans l'étape b) les globulines sont séparées des albumines avec un procédé comprenant les étapes suivantes :

- b-i) faire flocculer des globulines de la fraction protéique pour obtenir une phase solide C en suspension dans une phase liquide D ; et
- b-ii) séparer la phase liquide D, contenant les albumines, de la phase solide C, contenant les globulines.

De préférence, dans l'étape b-i) la flocculation des globulines est réalisée en amenant le pH de la fraction protéique au pH isoélectrique des globulines. Plus préférentiellement, le pH de la fraction protéique est ajusté à 4,5. La flocculation des protéines peut notamment être réalisée en chauffant la fraction protéique à

une température de 30 à 70°C, en particulier pendant 5 à 30 minutes, plus particulièrement entre 10 à 30 minutes.

Dans l'étape b-ii), la phase solide C (également appelée « floc ») est de préférence séparée de la phase liquide D par centrifugation. La phase solide C correspond à la fraction enrichie en globulines et comprend les globulines. La phase liquide D correspond à la fraction enrichie en albumines et comprend les albumines ainsi que d'autres composés solubles en phase aqueuse, en particulier, des sels, des acides aminés et des glucides.

Le procédé selon l'invention comprend une étape c) dans laquelle la teneur en facteurs anti-trypsiques de la fraction enrichie en albumines est réduite pour obtenir une fraction enrichie en albumines traitée.

Selon un mode de réalisation préférentiel, dans l'étape c) la fraction enrichie en albumines traitée présente une teneur en facteurs anti-trypsiques dans l'extrait sec de 20 à 80 UIT/mg, de préférence de 30 à 50 UIT/mg.

De préférence, dans l'étape c) la teneur en facteurs anti-trypsiques de la fraction enrichie en albumine est réduite avec un procédé comprenant les étapes suivantes :

c-i) faire une microfiltration ou une centrifugation de la fraction enrichie en albumines pour obtenir un perméat de microfiltration ou un surnageant de centrifugation; et
c-ii) faire une ultrafiltration dudit perméat de microfiltration ou dudit surnageant de centrifugation pour obtenir un rétentat d'ultrafiltration, correspondant à la fraction enrichie en albumines traitée.

La microfiltration de l'étape c-i) conduit à un perméat et à un rétentat de microfiltration. C'est le perméat qui est ensuite traitée dans l'étape ultérieure c-ii) d'ultrafiltration. La centrifugation de l'étape c-i) conduit quant-à-elle à un surnageant

et à un sédiment de centrifugation. C'est le surnageant qui est ensuite traité dans l'étape ultérieure c-ii) d'ultrafiltration.

Lorsque l'étape c-i) est une microfiltration, celle-ci est préférentiellement une microfiltration tangentielle membranaire. Plus particulièrement, la microfiltration tangentielle est préférentiellement réalisée avec une membrane céramique présentant une porosité de 0,01 μm à 1 μm , préférentiellement de 0,05 μm à 0,5 μm .

L'étape c-ii) d'ultrafiltration est effectuée sur le perméat de microfiltration ou sur le surnageant de centrifugation. Elle permet d'obtenir d'une part un rétentat d'ultrafiltration riche en albumines, et d'autre part un perméat riche en sels, en acides aminés et en glucides. Plus particulièrement, il est recommandé de réaliser l'ultrafiltration à l'aide d'une membrane présentant un seuil de coupure compris entre 0.1 et 0.5 μm , la pression transmembranaire étant maintenue inférieure à 4 bars.

Le procédé selon l'invention comprend une étape d) dans laquelle la fraction enrichie en albumines traitée est soumise à un ajustement de pH puis à un chauffage pour obtenir une fraction enrichie en albumines thermisée. Cette étape permet notamment d'obtenir des albumines présentant une activité émulsifiante supérieure à 600 mL d'huile de maïs par gramme d'albumines.

Selon un mode de réalisation préféré, dans l'étape d) le pH de la fraction enrichie en albumines traitée est ajusté à une valeur comprise entre 6 et 8, de préférence entre 6,5 et 7,5. Le pH de la fraction enrichie en albumines traitée peut notamment être ajusté par ajout d'une base choisie parmi la soude, la potasse ou l'ammoniaque, préférentiellement de la soude. A noter que l'utilisation du carbonate est à éviter car il a une action néfaste sur le goût de la fraction albumine obtenue.

Le chauffage de la fraction enrichie en albumines traitée après l'ajustement de pH peut notamment être un chauffage de type UHT, c'est-à-dire un chauffage à une température très élevée pendant un temps court. Selon un mode de réalisation préféré, dans l'étape d) 5 la fraction enrichie en albumines traitée est chauffée à une température comprise entre 130°C et 150°C, préférentiellement 140°C, pendant une durée comprise entre 5 et 15 secondes, préférentiellement 10 secondes.

Le procédé selon l'invention comprend une étape e) dans 10 laquelle la fraction enrichie en globulines et la fraction enrichie en albumines thermisée sont mélangées de manière à ce que l'extrait sec du mélange présente un ratio massique des globulines sur les albumines de 65/35 à 85/15, de préférence de 70/30 à 82/18, plus préférentiellement de 75/25 à 80/20.

15

La fraction enrichie en globulines et la fraction enrichie en albumines thermisée sont mélangées en milieu humide et ledit mélange est ensuite séché. Le mélange en milieu humide peut notamment être réalisé dans tout récipient convenant à cet effet, de préférence 20 équipé d'un système d'agitation adéquat tel qu'un arbre mobile équipé de pales ou de turbines. Après obtention d'un mélange homogène, celui-ci est séché à l'aide de techniques bien connues de l'homme du métier telles que l'atomisation, préférentiellement l'atomisation dite « multiple-effet », ou bien la lyophilisation.

25

Le procédé selon l'invention peut en outre comprendre une ou plusieurs étapes facultatives avant et/ou après l'une des étapes a) b) c) d) ou e). Selon un mode de réalisation particulier, le procédé selon l'invention peut comprendre une étape d'hydrolyse enzymatique 30 de la fraction protéique enrichie en globulines et/ou de la fraction protéique enrichie en albumines traitée entre l'étape c) et l'étape

e). Le type d'enzyme utilisé dans la réaction d'hydrolyse enzymatique est de préférence une enzyme du groupe des protéases.

Sans être liée par une quelconque théorie, la demanderesse s'est aperçue que c'est le choix

- 5 • d' une fraction riche en albumines particulière en ce que son activité émulsifiante est supérieur à 600 ml d'huile par gramme de protéines, préférentiellement supérieur à 800 ml d'huile par gramme de protéines, encore plus préférentiellement supérieur à 1000 ml d'huile par gramme
- 10 de protéines
- puis de son mélange par voie humide avec une fraction riche en globuline suivi d'un séchage de la solution ainsi obtenue, préférentiellement par atomisation

 qui permet d'obtenir les propriétés uniques de la composition

15 sujette de la présente invention.

La présente invention a également pour objet l'utilisation de la composition de protéines de pois selon l'invention dans une composition alimentaire ou pharmaceutique.

20 En effet, du fait de son excellente qualité nutritionnelle et de sa faible allergénicité, une telle composition de protéines de pois est d'un intérêt certain dans de nombreuses applications industrielles, en particulier dans l'industrie agroalimentaire ou pharmaceutique, et en nutrition animale.

25 Par composition alimentaire on entend une composition destinée à l'alimentation humaine ou animale. Le terme composition alimentaire englobe les produits alimentaires et les compléments alimentaires. Par composition pharmaceutique on entend une composition destinée à un usage thérapeutique.

Les exemples qui suivent permettent de mieux illustrer la demande, sans toutefois en limiter la portée.

Exemple 1 : Production de farine de pois et des fractions enrichies respectivement en globulines et en albumines de pois .

5 De la farine de pois est initialement préparée par broyage de pois fourragers décortiqués sur broyeur à marteaux de type ALPINE équipé d'une grille de 100 µm. Cette farine sera nommée « farine de pois ».

10 300 kg de farine de pois à 87% en poids de matière sèche sont ensuite mis à tremper dans de l'eau à la concentration finale de 25% en poids de matière sèche (MS), à un pH de 6,5. 1044 kg de suspension de farine à 25% en poids de MS (soit donc 261 kg de farine sèche) sont alors introduits avec 500 kg d'eau dans une batterie d'hydrocyclones composée de 14 étages. Elle est alimentée
15 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. Elle est constituée d'un mélange de protéines, de fibres et de solubles. Cette phase légère en sortie d'hydrocyclones renferme en mélange (142 kg de MS au total) : les fibres (environ
20 14,8% en poids, soit 21 kg de MS), les protéines (environ 42,8% en poids, soit 60,8 kg de MS) et les solubles (environ 42,4% en poids, soit 60,2 kg de MS). Cette fraction présente une teneur en MS de 11,4% en poids. On procède à la séparation des fibres sur décanteurs centrifuges de type WESTFALIA employés dans une unité industrielle
25 féculière de traitement de la pomme de terre. 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% en poids de MS. On constate que la quasi-totalité des fibres est bien retrouvée dans
30 cette fraction. Quant à la fraction protéines et matières solubles, elle renferme 1142 kg d'un mélange en solution de matières solubles et de protéines (fraction à 6% en poids de MS). On procède à la

floculation des protéines à leur point isoélectrique par ajustement de la phase légère en sortie de décanteur centrifuge à un pH de 4,5 et chauffage à 50°C. Les protéines ainsi mises à flocculer sont laissées 10 minutes en cuve de maturation. Après précipitation des protéines, on procède à une décantation centrifuge, qui permet de récupérer du sédiment renfermant 56 kg de protéines (86% de Nx6,25 sur sec) à 20% en poids de MS et un surnageant contenant entre autre la fraction protéique contenant les albumines. Ce sédiment correspond à la fraction protéique enrichie en globulines et il sera nommé « fraction enrichie en globulines ». Le surnageant correspond à la fraction protéique enrichie en albumines et il sera nommé « fraction enrichie en albumines ».

On procède ensuite au raffinage de la fraction enrichie en albumines. Son pH est ajusté à 7.0 par ajout de soude à 50%. La température de la suspension ainsi obtenue a été amenée à 70°C. La solution est pompée au travers d'une unité de microfiltration équipée de membranes céramiques type Inside Ceram® ayant un seuil de coupure de 0,14 µm (19 canaux de 4,5 mm). Tout au long de la filtration, la température est régulée à 60°C et la pression transmembranaire maintenue à une valeur comprise entre 0,4 et 0,6 bar. 707 litres de perméat de microfiltration et 1768 litres de rétentat de microfiltration sont ainsi récupérés. 550 litres du perméat sont pompés au travers d'une unité d'ultrafiltration. L'unité d'ultrafiltration est équipée de membranes céramiques type KERASEP® BX commercialisées par la société NOVASEP et ayant un seuil de coupure de 15 kDa (7 canaux de 6 mm). Tout au long de la filtration, la température est régulée à 60°C et la pression transmembranaire maintenue à une valeur comprise entre 1 et 3 bars. 467 litres de perméat d'ultrafiltration et 33 litres de rétentat contenant 75% en poids de protéines à 7,2% en poids de MS sont ainsi récupérés. Ce rétentat d'ultrafiltration correspond à la fraction protéique enrichie en albumines traitée et sera nommé « fraction enrichie en albumines traitée ».

Le pH de la fraction enrichie en albumines traitée est alors rectifié sous agitation à pH 6,8 par ajout de soude concentrée à 50%. Un traitement thermique UHT est ensuite appliqué en faisant passer la fraction enrichie en albumines traitée sur un skid VOMATEC, à une température de 140°C pendant un temps de contact d'une dizaine de secondes puis en flashant sous vide à environ 90°C. Le produit final sera nommé « fraction enrichie en albumines thermisée ».

Exemple 2 : Préparation de compositions de protéines de pois selon l'invention

10 On utilise une cuve en acier inoxydable équipée d'un agitateur motorisé. On introduit dans cette cuve 1,89 kg de « fraction enrichie en globulines » et 2 kg de « fraction enrichie en albumines thermisée ». Ce mélange permet l'obtention d'un ratio exprimé en pourcentage relatif de matière sèche entre la « fraction enrichie en globulines » et la « fraction enrichie en albumines thermisée » de 15 75/25. On démarre ensuite l'agitateur motorisé et on homogénéise le produit pendant 15 à 30 minutes. Le mélange est ensuite envoyé vers une tour d'atomisation simple effet afin d'être séché. On récupère ainsi une poudre titrant 95% en poids de MS. Le produit sera nommé 20 « composition protéique de pois 75/25 ».

On utilise à nouveau la cuve précédente en acier inoxydable équipée d'un agitateur motorisé. On introduit dans cette cuve 2,5 kg de « fraction enrichie en globulines » et 2 kg de « fraction enrichie en albumines thermisée ». Ce mélange permet l'obtention d'un ratio exprimé en pourcentage relatif de matière sèche entre la « fraction enrichie en globulines » et la « fraction enrichie en albumines thermisée » de 80/20. On démarre ensuite l'agitateur motorisé et on homogénéise le produit pendant 15 à 30 minutes. Le mélange est ensuite envoyé vers une tour d'atomisation simple effet 25 afin d'être séché. On récupère ainsi une poudre titrant 96% en poids de MS. Le produit sera nommé « composition protéique de pois 80/20 ». 30

Exemple 2 bis : Préparation de compositions de protéines de pois hors invention, utilisant des « fraction enrichie en albumines traitée »

On utilise une cuve en acier inoxydable équipée d'un agitateur
5 motorisé. On introduit dans cette cuve 1,89 kg de « fraction enrichie en globulines » et 2 kg de « fraction enrichie en albumines traitée ». Comme décrit ci-dessus dans l'exemple 2, cette fraction n'est pas neutralisée à 6,8 et ne subit pas de traitement UHT. Ce mélange permet l'obtention d'un ratio exprimé en pourcentage relatif
10 de matière sèche entre la « fraction enrichie en globulines » et la « fraction enrichie en albumines traitée » de 75/25. On démarre ensuite l'agitateur motorisé et on homogénéise le produit pendant 15 à 30 minutes. Le mélange est ensuite envoyé vers une tour d'atomisation simple effet afin d'être séché. On récupère ainsi une
15 poudre titrant 95% en poids de MS. Le produit sera nommé « composition protéique de pois 75/25 ».

Exemple 3 : Méthodologie du calcul de la digestibilité et du PDCAAS

La mesure de la digestibilité protéique chez le rat est décrite
20 dans l'article de la FAO suivant : « Protein Quality Evaluation. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Rome, Italy. »

Pour cela, l'aliment expérimental est composé de 10% en poids des protéines à tester, 1% en poids d'un mélange de vitamines AIN93, 3,5% en poids d'un mélange de minéraux AIN93, 0,2% en poids de
25 bitartrate de choline, 5% en poids de cellulose, 10% en poids d'huile de maïs. L'aliment est complété à 100% avec de l'amidon de maïs.

Ce même aliment ne contenant pas de protéine sera utilisé comme témoin de l'essai. Pour cela, les protéines seront substituées par
30 de l'amidon de maïs.

Des rats Sprague-Dawley en croissance (poids compris entre 50 et 70g au début de l'essai) seront hébergés individuellement dans des cages à métabolisme à une température comprise entre 18 et 24°C et une humidité comprise entre 40 et 70%. Les rats seront nourris avec un aliment standard au minimum 2 jours avant le début de l'essai. Ils sont ensuite nourris avec les régimes expérimentaux pendant une durée minimum de 9 jours constituée d'une première période d'acclimatation aux régimes de 4 jours suivie par une période de 5 jours de recueil des fèces. L'eau est donnée ad-libitum pendant toute la durée de l'étude. Les fèces ainsi recueillies quotidiennement sont pesées, lyophilisées pendant 24 heures et broyées. La mesure de l'azote contenu dans l'aliment et dans les fèces permettra de calculer la digestibilité protéique. La méthode de mesure utilisée est la méthode Kjeldahl.

L'azote ingéré et l'azote excrété est obtenu en multipliant la prise alimentaire ou le poids des fèces par les taux d'azote respectifs. Le taux d'azote basal est obtenu par la mesure de l'azote fécal des animaux nourris par le régime ne contenant pas de protéines.

La digestibilité protéique est obtenue de la façon suivante :

$$\text{Digestibilité} = [\text{Azote ingéré} - (\text{Azote fécal} - \text{Azote basal})] / \text{Azote ingéré} * 100$$

L'aminogramme ou profil en acides aminés totaux est établi à l'aide de la méthode officielle NF EN ISO13903 :2005.

Le score en acides aminés est déterminé comme étant l'acide aminé essentiel limitant par rapport au profil de référence déterminé chez l'adulte. Pour l'obtenir, il faut calculer le ratio suivant : [mg de l'acide aminé contenu dans 1g de la protéine test] / [mg de l'acide aminé du profil de référence]. La plus petite valeur représente le score en acides aminés.

Le PDCAAS (Protein digestibility corrected amino acid score) est obtenu est multipliant ce score en acide aminé limitant par la digestibilité protéique déterminée chez le rat.

Le profil de référence chez l'adulte est décrit par la FAO dans son article : « Protein and amino acid requirements in human nutrition. Report of a joint WHO/FAO/UNU expert consultation. Geneva, Switzerland. 2007.

Acide aminé essentiel	g/g de protéine
Histidine	15
Isoleucine	30
Leucine	59
Lysine	45
Méthionine	16
Cystéine	6
Méthionine + Cystéine	22
Phénylalanine + Tyrosine	30
Thréonine	23
Tryptophane	6
Valine	39

5 **Exemple 4 : Méthodologie de mesure de la teneur en facteurs anti-trypsiques**

La méthode de mesure de la teneur en facteurs anti-trypsiques consiste à extraire par de la soude les inhibiteurs de la trypsine. Des volumes croissants de l'échantillon dilué sont mis en contact
 10 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 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
 15 alors calculée à partir de la vitesse de diminution de la coloration. 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. La teneur en facteur anti-trypsiques s'exprime en unité d'inhibition de la trypsine par mg d'échantillon à tester (UIT/mg).

Exemple 5 : Comparaison des différentes fractions

- 5 Le tableau ci-dessous synthétise les analyses du PDCAAS (selon exemple 3), de la teneur en facteurs anti-trypsiques (selon exemple 4) et de la capacité émulsifiante (selon méthode explicitée dans la description).

Référence	Teneur en facteurs anti-trypsiques (UIT/mg)	Digestibilité	PDCAAS	Capacité émulsifiante (en ml d'huile par g de protéines)
Farine de pois	Pas réalisé	77,3	0,63	
Fraction enrichie en globulines	3	97,3	0,93	
Fraction enrichie en albumines traitée	41	96,9	0,56	500
Fraction enrichie en albumines thermisée	9,8	97,1	Pas réalisé	1300
Composition protéique de pois 75/25 selon l'invention	4	97,0	1	400
Composition protéique de pois 80/20 selon l'invention	5	7,2	1	450
<u>compositions de protéines de pois hors invention, utilisant des « fraction enrichie en albumines traitée »</u>				100

Ces exemples démontrent bien la concentration des facteurs anti-trypsiques dans la fraction enrichie en albumines, ce qui confirme donc l'enseignement général du domaine technique indiquant que ces fractions de bas poids moléculaire et hydrosolubles sont riches en facteurs anti-trypsiques. L'homme de l'art aurait donc été dissuadé de réutiliser cette fraction dans l'intention d'améliorer le PDCAAS de la fraction enrichie en globulines. Il aurait plutôt choisi d'utiliser des sources complémentaires telles que des protéines de blé comme enseigné dans l'art antérieur. La Demanderesse a été au-delà de cet enseignement et a développé une solution permettant l'obtention d'une protéine dont le PDCAAS est égal à 1 uniquement basé sur des fractions protéiques issues du pois.

Exemple 8 : Réalisation de boisson type « Ready To Drink » ou « Prête à Boire »

Les différentes compositions sont comparés par leur utilisation dans la formulation de boissons dites « prêtes à boire » ou « Ready To Drink ». Les différents composants sont résumés dans le tableau suivant :

20

25

	Contrôle 100% lait	Contrôle Isolat classique	Invention 1	Invention 2	Hors invention
eau	60				
Maltodextrine Glucidex IT19 (ROQUETTE)	18,74	18,34	18,51	18,51	18,51
Protéine de lait MPI Prodiel 85b	10,8	5,53	5,53	5,53	5,53
Isolat de pois Nutralys S85F	0	5,67	0	0	0
Composition protéique de pois 75/25 selon l'invention	0	0	5,5	0	0
Composition protéique de pois 80/20 selon l'invention	0	0	0	5,5	0
Composition de protéines de pois hors invention, utilisant des « fraction enrichie en albumines traitée »	0	0	0	0	5,5
huile de colza	3,78				
saccharose	3,4				
huile de tournesol	2,52				
lecithine de soja	0,4				
arôme vanille	0,36				

Le procédé de production des boissons est le suivant :

- Mélange à sec des poudres (protéines, maltodextrines and saccharose),
- 5 • Chauffer l'eau à 50°C, ajout des poudres, dispersion avec un agitateur Silverson pendant 30 min_à 50°C_3500 tr/min, ajout arôme vanille,
- Mélange et fonte séparée de la lécithine de soja et de l'huile à 50°C,

- Après 30 min, ajout du mélange léctihine/huile à la solution aqueuse, mélange sous haute agitation 5min à 10000tr/min,
 - Chauffage à 75°C
- 5
- Homogenisation à 200 bars_en 2 étapes
 - Refroidissement et stockage à 4°C.

Afin de quantifier la qualité d'émulsion dans les boissons, on mesure la taille des particules à l'aide d'un Particle Size Analyser 3000 de la société MALVERN. Le Dmode représente la taille moyenne des particules émulsifiées.

10

en microns	Contrôle 100% lait	Contrôle Isolat classique	Invention 1	Invention 2	Hors invention
D10	0,186	0,565	0,203		3,61
D50	0,546	43,1	0,482		9,34
D90	1,66	105	6,2		103
D mode	0,577	69,1	0,444		6,19
D 4,3	3,48	47,9	3,08		35,1

Seules les boissons réalisées avec l'invention permettent l'obtention de particules aussi bien émulsionnées qu'avec le témoin 100% lait référence.

REVENDICATIONS

1. Composition de protéines de pois comprenant des globulines et des albumines caractérisée en ce que l'extrait sec de la composition :
 - comprend au moins 80% en poids, de préférences de 80 à 99% en poids, plus préférentiellement de 85 à 98% en poids, de 90 à 97% en poids, de 92 à 95% en poids de protéines par rapport au poids de l'extrait sec ;
 - présente un ratio massique des globulines sur les albumines de 65/35 à 85/15, de préférence de 70/30 à 82/18, plus préférentiellement de 75/25 à 80/20.
2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'extrait sec de la composition présente une teneur en facteurs anti-trypsiques de 1 à 5 UIT/mg.
3. Composition selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que les albumines présentent une activité émulsifiante supérieure à 600, de préférence supérieure à 800, plus préférentiellement supérieure à 1000 mL d'huile de maïs par gramme d'albumines.
4. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce qu'elle présente un PDCAAS égal à 1.
5. Procédé de préparation d'une composition de protéines de pois comprenant les étapes suivantes :
 - a) extraire les globulines et les albumines du pois pour obtenir une fraction protéique ;
 - b) séparer les globulines des albumines pour obtenir une fraction enrichie en globulines et une fraction enrichie en albumines ;
 - c) réduire la teneur en facteurs anti-trypsiques de la fraction enrichie en albumines pour obtenir une fraction enrichie en albumines traitée ;
 - d) ajuster le pH puis chauffer la fraction enrichie en albumines traitée pour obtenir une fraction enrichie en albumines thermisée ;

- e) mélanger la fraction enrichie en globulines et la fraction enrichie en albumines thermisée de manière à ce que l'extrait sec du mélange présente un ratio massique des globulines sur les albumines de 65/35 à 85/15, de préférence de 70/30 à 82/18, plus
5 préférentiellement de 75/25 à 80/20.
6. Procédé selon la revendication 4 ou 5 caractérisé en ce que dans l'étape b) les globulines sont séparées des albumines avec un procédé comprenant les étapes suivantes :
- b-i) faire flocculer des globulines de la fraction protéique pour
10 obtenir une phase solide C en suspension dans une phase liquide D ; et
- b-ii) séparer la phase liquide D, contenant les albumines, de la phase solide C, contenant les globulines.
7. Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 6
15 caractérisé en ce que dans l'étape c) la fraction enrichie en albumines traitée présente une teneur en facteurs anti-trypsiques dans l'extrait sec de 20 à 80 UIT/mg, de préférence de 30 à 50 UIT/mg.
8. Procédé selon l'une quelconque des revendications 4 à 7
20 caractérisé en ce que dans l'étape d) le pH est ajusté à une valeur comprise entre 6,5 et 7,5.
9. Procédé selon une quelconque des revendications 4 à 8
25 caractérisé en ce que dans l'étape d) la fraction enrichie en albumines traitée est chauffée à une température comprise entre 130°C et 150°C, préférentiellement 140°C, pendant une durée comprise entre 5 et 15 secondes, préférentiellement 10 secondes.
10. Utilisation de la composition de protéines de pois telle que définie à l'une quelconque des revendications 1 à 4 dans une composition alimentaire ou pharmaceutique.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2018/052403

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A23L11/30 A23J1/14 A23J3/14 A23L33/185
ADD.
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A23L A23J
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2012/047252 A1 (PROTEUS INDUSTRIES INC [US]) 12 April 2012 (2012-04-12) the whole document	1,10
X	----- Anonyme: "Pea protein", Bulk Nutrients 15 September 2015 (2015-09-15), XP002788006, Retrieved from the Internet: URL:https://www.bulknutrients.com.au/products/pea-protein.html [retrieved on 2019-01-16] the whole document ----- -/--	1,10

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 17 January 2019	Date of mailing of the international search report 26/02/2019
--	--

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Piret-Viprey, E
--	---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2018/052403

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	REINKENSMEIER ANNIKA ET AL: "Characterization of individual proteins in pea protein isolates and air classified samples", FOOD RESEARCH INTERNATIONAL, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 76, 8 May 2015 (2015-05-08), pages 160-167, XP029251386, ISSN: 0963-9969, DOI: 10.1016/J.FOODRES.2015.05.009	1,2,10
A	table 1 figures 2,3,6	3,4
X	----- Anonyme: "Roquette NUTRALYS® plant-based proteins: Trusted, Competitive, Unique!", Roquette 25 January 2017 (2017-01-25), XP002788026, Retrieved from the Internet: URL:https://www.roquette.com/food-and-nut- rition/selected-ingredients/food-nutralys/ [retrieved on 2019-01-16] the whole document	1,10
X	----- Leterme P., Monmart T. and Baudart E.: "Amino acid composition of pea (Pisum sativum) proteins and protein profile of pea flour", Journal of the Science of Food and Agriculture, vol. 53 6 May 1990 (1990-05-06), pages 107-110, XP002788010, Retrieved from the Internet: URL:https://www.researchgate.net/publicati- on/230106119_Amino_acid_composition_of_pea_ _Pisum_sativum_proteins_and_protein_profil- e_of_pea_flour [retrieved on 2019-01-16] the whole document table 1	1
A	----- WO 2007/017572 A1 (ROQUETTE FRERES [FR]; PASSE DAMIEN [FR]; FOUACHE CATHERINE [FR]; VERRI) 15 February 2007 (2007-02-15) cited in the application the whole document	5-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/FR2018/052403

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2012047252 A1	12-04-2012	CA 2813712 A1	12-04-2012
		EP 2624707 A1	14-08-2013
		US 2012082767 A1	05-04-2012
		US 2015264971 A1	24-09-2015
		WO 2012047252 A1	12-04-2012

WO 2007017572 A1	15-02-2007	AT 482625 T	15-10-2010
		CA 2617698 A1	15-02-2007
		EP 1909593 A1	16-04-2008
		ES 2353730 T3	04-03-2011
		FR 2889416 A1	09-02-2007
		US 2008226810 A1	18-09-2008
		WO 2007017572 A1	15-02-2007

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2018/052403

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. A23L11/30 A23J1/14 A23J3/14 A23L33/185 ADD.				
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB				
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) A23L A23J				
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche				
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data				
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS				
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées		
X	WO 2012/047252 A1 (PROTEUS INDUSTRIES INC [US]) 12 avril 2012 (2012-04-12) le document en entier -----	1,10		
X	Anonyme: "Pea protein", Bulk Nutrients 15 septembre 2015 (2015-09-15), XP002788006, Extrait de l'Internet: URL:https://www.bulknutrients.com.au/products/pea-protein.html [extrait le 2019-01-16] le document en entier ----- -/--	1,10		
<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe </td> </tr> </table>			<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents	<input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents	<input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe			
* Catégories spéciales de documents cités:				
"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée		"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "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 "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 17 janvier 2019		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 26/02/2019		
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Piret-Viprey, E		

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>REINKENSMEIER ANNIKA ET AL: "Characterization of individual proteins in pea protein isolates and air classified samples", FOOD RESEARCH INTERNATIONAL, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 76, 8 mai 2015 (2015-05-08), pages 160-167, XP029251386, ISSN: 0963-9969, DOI: 10.1016/J.FOODRES.2015.05.009</p>	1,2,10
A	<p>tableau 1 figures 2,3,6</p>	3,4
X	<p>-----</p> <p>Anonyme: "Roquette NUTRALYS® plant-based proteins: Trusted, Competitive, Unique!", Roquette 25 janvier 2017 (2017-01-25), XP002788026, Extrait de l'Internet: URL:https://www.roquette.com/food-and-nutrition/selected-ingredients/food-nutralys/ [extrait le 2019-01-16] le document en entier</p>	1,10
X	<p>-----</p> <p>Leterme P., Monmart T. and Baudart E.: "Amino acid composition of pea (Pisum sativum) proteins and protein profile of pea flour", Journal of the Science of Food and Agriculture, vol. 53 6 mai 1990 (1990-05-06), pages 107-110, XP002788010, Extrait de l'Internet: URL:https://www.researchgate.net/publication/230106119_Amino_acid_composition_of_pea_Pisum_sativum_proteins_and_protein_profile_of_pea_flour [extrait le 2019-01-16] le document en entier tableau 1</p>	1
A	<p>-----</p> <p>WO 2007/017572 A1 (ROQUETTE FRERES [FR]; PASSE DAMIEN [FR]; FOUACHE CATHERINE [FR]; VERRI) 15 février 2007 (2007-02-15) cité dans la demande le document en entier</p> <p>-----</p>	5-9

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°

PCT/FR2018/052403

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2012047252 A1	12-04-2012	CA 2813712 A1	12-04-2012
		EP 2624707 A1	14-08-2013
		US 2012082767 A1	05-04-2012
		US 2015264971 A1	24-09-2015
		WO 2012047252 A1	12-04-2012

WO 2007017572 A1	15-02-2007	AT 482625 T	15-10-2010
		CA 2617698 A1	15-02-2007
		EP 1909593 A1	16-04-2008
		ES 2353730 T3	04-03-2011
		FR 2889416 A1	09-02-2007
		US 2008226810 A1	18-09-2008
		WO 2007017572 A1	15-02-2007
