

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

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
11 octobre 2012 (11.10.2012)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2012/137146 A2

(51) Classification internationale des brevets :

A23L 1/227 (2006.01) A23G 1/44 (2006.01)
A23L 1/305 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
A23L 1/325 (2006.01) A23G 1/00 (2006.01)
A23L 1/22 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/IB2012/051658

(22) Date de dépôt international :

4 avril 2012 (04.04.2012)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

11/53075 8 avril 2011 (08.04.2011) FR

(72) Inventeur; et

(71) Déposant : POTTECHER, Frédéric [FR/FR]; 5 Fave-
rolles, F-28140 Terminiers (FR).

(74) Mandataires : PEAUCELLE, Chantal et al.; Cabinet Ar-
mengaud Aîné, 3, Avenue Bugeaud, F-75116 Paris (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, BR, BW, BY, BZ,

CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, 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, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv))

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée
dès réception de ce rapport (règle 48.2.g))

(54) Title : MEANS FOR CONCEALING THE FLAVOUR AND SMELL OF PEPTIDE HYDROLYSATES

(54) Titre : MOYENS POUR MASQUER LE GOUT ET L'ODEUR D'HYDROLYSATS PEPTIDIQUES

(57) Abstract : The invention relates to a basic composition of peptide hydrolysates containing, in a homogeneous mix, a combina-
tion of said hydrolysates with chocolate, in which the weight percentage of peptide hydrolysates in the composition does not exceed
2 %, preferably 1.5 %. The invention can be used, in particular, in the dietary field, and in the fields of nutraceuticals, food supple-
ments and pharmaceuticals.

(57) Abrégé : L'invention a pour objet une composition base d'hydrolysats peptidiques, renfermant, selon un mélange homogène,
une combinaison de ces hydrolysats avec du chocolat, le pourcentage en poids des hydrolysats peptidiques dans la composition n'ex-
cède pas 2 %, de préférence n'excède pas 1,5%. Applications notamment dans les domaines alimentaire, nutraceutique, des complé-
ments alimentaire et pharmaceutique.



WO 2012/137146 A2

MOYENS POUR MASQUER LE GOUT ET L'ODEUR
D'HYDROLYSATS PEPTIDIQUES

5

L'invention a pour objet des moyens pour masquer le goût et l'odeur d'hydrolysats peptidiques, en particulier d'hydrolysats de produits de la mer.

Les hydrolysats peptidiques, et en particulier les
10 hydrolysats de produits de la mer (poissons, crustacés, mollusques, algues) présentent un grand intérêt au vu de leurs propriétés fonctionnelles et biologiques. Au cours des dernières années, un grand nombre d'hydrolysats peptidiques ont montré des activités très diverses. On citera, notamment
15 des activités aromatiques, comme exhausteurs de goût, hormonales, stimulatrices de croissance, immunomodulatrices, anti-hypertensives, anallergéniques, anti-oxydantes, amincissement, action sur le métabolisme lipidique, anti-cancer, anti-stress, augmentation de la libido chez l'Homme et
20 chez la Femme.

La production d'hydrolysats et en particulier ceux issus des produits de la mer est très ancienne. Dès l'Antiquité, les hydrolysats étaient déjà fabriqués et utilisés à grande échelle. Les Romains, par exemple,
25 fabriquaient le garum, un hydrolysat réalisé à partir de poissons gras qui subissaient une lacto-fermentation de longue durée (de plusieurs mois à plusieurs années) qui était contrôlée à l'aide d'un saumurage.

De nos jours, les hydrolysats de poissons ou de
30 crustacés sont encore fabriqués de manière traditionnelle sur le même principe.

Dans le Sud-est asiatique, ces hydrolysats sont très appréciés et largement répandus. Ils sont connus au Vietnam sous le nom de Nuoc-mam, en Thaïlande sous le nom de Nam-pla,
35 en Chine sous le nom de Mam-tom, et au Japon sous le nom de

Shiokara.

Ces hydrolysats réalisés selon des process traditionnels sont généralement obtenus par réaction biochimique, appelée hydrolyse enzymatique. Les produits de la mer, principalement des poissons ou des crustacés, sont progressivement "auto-digérés" par les enzymes endogènes présentes dans le produit de départ, en particulier par les enzymes de leur propre tube digestif. Il s'agit d'un phénomène d'autolyse qui permet d'obtenir un liquide visqueux, riche en mélanges de peptides et qui se conserve bien. Ces hydrolysats sont largement consommés comme condiments, mais ils sont également réputés pour leurs effets bénéfiques pour la santé.

Dans les process actuels, des enzymes exogènes sont utilisées comme, par exemple, la papaïne, qui est une protéase d'origine végétale. Il s'agit donc d'une hétérolyse puisque ces hydrolysats sont réalisés à partir d'enzymes ajoutées. Il existe sur le marché des hydrolysats obtenus par hétérolyse et réalisés à partir, notamment, de poissons, en particulier des poissons gras, de crustacés comme les huîtres ou les crevettes, de mollusques comme les amandes de mer (*Glycymeris glycymeris*), ou même à partir d'algues, comme la dulse et le lithothamne.

Les process de fabrication par hétérolyse permettent d'obtenir des hydrolysats beaucoup plus rapidement que par autolyse, avec un meilleur contrôle et, dans la plupart des cas, il est possible de se passer du saumurage. De façon générale, ces hydrolysats sont ensuite séchés et mis sous forme de poudre ce qui facilite leur conservation et leur utilisation.

L'hydrolyse enzymatique et, en particulier, l'hétérolyse permet de cliver les liaisons peptidiques des protéines en milieu aqueux, conduisant à des mélanges de peptides de bonne qualité, par rapport aux propriétés évoquées ci-dessus, ce qui n'est pas le cas avec les process

d'hydrolyse non enzymatique, à savoir mécanique, thermique ou chimique.

L'hétérolyse présente de nombreux avantages. Elle permet, à l'aide d'une ou plusieurs enzymes externes, d'obtenir une hydrolyse rapide, bien contrôlée, avec une qualité uniforme et une reproductibilité du produit. L'hétérolyse permet aussi d'obtenir des hydrolysats qui ont d'excellentes propriétés fonctionnelles et nutritives. Elle constitue donc une méthode appropriée pour la préparation contrôlée d'hydrolysats de très grande qualité. De plus, selon un avantage très important, il est possible de la diriger vers des peptides ou des mélanges de peptides ciblés pour leurs spécificités déterminées. On utilise à cet effet différentes enzymes ou mélanges d'enzymes, et/ou on module, notamment, la température, le pH, le ratio enzyme/substrat et le temps d'hydrolyse.

L'hétérolyse augmente aussi de manière significative la quantité de protéines libérées en comparaison avec l'autolyse. Shahidi et al. (1995) rapportent que, pour le poisson capelan (*Mallotus villosus*), l'autolyse permet de libérer seulement 22,6 % de protéines alors que l'hétérolyse par l'enzyme Alcalase® 2,4 L aboutit à la libération de 70,6 % de protéines.

Il est également possible de réaliser des hydrolysats à l'aide de produits chimiques comme des acides ou des bases, mais aussi à température ou pression élevée. Cependant, les hydrolysats obtenus par ces procédés non enzymatiques ont une valeur nutritionnelle réduite et de faibles propriétés fonctionnelles. En effet, les hydrolyses non enzymatiques ont pour inconvénient de dégrader fortement les protéines originelles. Les effets des hydrolysats obtenus par les procédés non enzymatiques sont alors réduits et les applications limitées généralement à une action d'exhausteurs

d'odeur et de goût.

Les hydrolysats, et en particulier ceux obtenus par hétérolyse, sont des produits de grand intérêt comme aliments, nutraceutiques, compléments alimentaires ou comme médicaments.

5 Cependant, de façon générale, les hydrolysats de peptides et en particulier ceux issus des produits de la mer, ont l'inconvénient d'avoir une odeur et un goût très désagréables, ce qui constitue un frein à leur utilisation. Cette odeur et ce goût sont extrêmement forts et sont
10 perceptibles même à travers des gélules, ce qui constitue un facteur limitant par rapport à leur acceptabilité dans des aliments, des nutraceutiques, des compléments alimentaires, ou des médicaments.

De nombreux produits ont été testés sans succès pour
15 masquer l'odeur et le goût des hydrolysats. De façon inattendue, l'inventeur a constaté que ces inconvénients pouvaient être surmontés en élaborant une composition de structure homogène avec un additif conférant pour le consommateur un goût agréable au produit résultant.

20 L'invention vise donc à fournir une nouvelle composition à base d'hydrolysats peptidiques de goût agréable tout en maintenant leurs propriétés, voire en les améliorant.

Elle a également pour but de fournir un procédé pour sa préparation, de mise en œuvre technique aisée.

25 Selon un autre aspect, l'invention vise en outre les applications d'une telle composition, notamment dans les domaines alimentaires, nutraceutiques, compléments alimentaires et pharmaceutiques.

La composition à base d'hydrolysats peptidiques de
30 l'invention est caractérisée en ce qu'elle renferme selon un mélange homogène une combinaison de ces hydrolysats avec du chocolat. Le pourcentage en poids des hydrolysats peptidiques dans la composition n'excède pas 2%, de préférence n'excède pas 1,5%.

Par « hydrolysats, peptidiques », on entend conformément à l'invention, des hydrolysats formés de mélanges peptidiques et/ou d'acides aminés, ce qui exclut des hydrolysats provenant d'un seul type de peptide, de spectre d'activité restreint par rapport aux mélanges utilisés dans l'invention.

Lorsqu'une composition d'hydrolysat est mélangée en petites quantités à du chocolat, l'odeur et le goût très fort de l'hydrolysat sont masqués par le chocolat. Le mélange final a le goût et l'odeur du chocolat, et l'odeur désagréable de l'hydrolysat a disparu. Seuls le goût et l'odeur agréables du chocolat sont perceptibles. Le mélange final devient donc fortement attractif d'un point de vue gustatif alors qu'il était initialement très répulsif. Cela facilite considérablement l'acceptation du produit en faisant disparaître la barrière du goût et de l'odeur à l'usage.

De plus, les hydrolysats se dégradent progressivement lorsqu'ils sont au contact de l'oxygène et de la lumière, ce qui limite leur conservation. Le chocolat permet alors d'améliorer la conservation des hydrolysats car il constitue une couverture qui les protège de l'oxydation et de la lumière.

Les tests gustatifs réalisés montrent en effet qu'en mélangeant :

- jusqu'à 1 % d'hydrolysat pour 99 % de chocolat, le goût et l'odeur de l'hydrolysat sont masqués et le goût final est celui du chocolat ;
- au-delà de 1 % et jusqu'à 1,5 % d'hydrolysat, le goût et l'odeur de l'hydrolysat sont à peine perceptibles, et le goût du mélange final reste agréable ;
- au-delà de 1,5 %, le goût et l'odeur de l'hydrolysat apparaissent progressivement et, à partir de 2 %,

l'odeur et le goût de l'hydrolysat sont très nets.

Le chocolat permet donc de masquer efficacement le goût et l'odeur de l'hydrolysat jusqu'à 1,5 % et ainsi d'obtenir un produit agréable à consommer. En outre, les propriétés de l'hydrolysat sont avantageusement préservées et, de plus, le chocolat protège l'hydrolysat de la lumière et de l'oxydation, ce qui favorise donc sa conservation à long terme.

De préférence, l'hydrolysat utilisé pour la composition de l'invention se présente sous forme de poudre et le chocolat est du chocolat noir. En variante, le chocolat est du chocolat au lait ou du chocolat blanc. Ces divers chocolats peuvent, être sous forme de poudre ou sous forme à croquer, par exemple sous forme de tablettes, de carrés, de pastilles, de pépites, ou de couverture ou encore du chocolat utilisé comme enrobage.

On utilise avantageusement un hydrolysate formé d'un mélange de peptides obtenu par hétérolyse enzymatique de produits de la mer, tels que poissons, crustacés, mollusques ou algues.

Selon un mode de réalisation de l'invention, on utilise un hydrolysate peptidique produit par hétérolyse enzymatique de protéines de poissons gras. Il s'agit avantageusement d'un hydrolysate, tel que commercialisé dans des compléments alimentaires pour son effet anti-stress. Cet hydrolysate est caractérisé par des peptides de 250 à 1000 daltons.

Un tel hydrolysate comporte au moins 10 des acides aminés naturels choisis dans le groupe comprenant la lysine, l'histidine, l'arginine, l'acide aspartique, la thréonine, la sérine, l'acide glutamique, la proline, la glycine, l'alanine, la cystéine, la valine, la méthionine, l'isoleucine, la leucine, la tyrosine, la phénylalanine et le tryptophane.

Les pourcentages en poids des acides aminés varient d'environ 0,9 à 15 % en poids par rapport au poids total de l'hydrolysate.

Un hydrolysate du commerce répond par exemple à la composition suivante : lysine (8,63 %), histidine (3,10 %), arginine 5,01 %, acide aspartique 9,10 %, thréonine 4,66 %, sérine 4,45 %, acide glutamique 13,81 %, proline 6,00 %, glycine 7,53 %, alanine 7,35 %, cystéine 0,84 %, valine 5,59 %, méthionine 2,78 %, isoleucine 4,42 %, leucine 8,06 %, tyrosine 3,18 %, phénylalanine 4,22 % et tryptophane 0,93 %.

Selon un autre mode de réalisation de l'invention, on utilise un hydrolysate peptidique produit par hétérolyse enzymatique de mollusques marins, comme les amandes de mer.

Conformément à d'autres modes de réalisation, des mélanges d'hydrolysats peuvent être utilisés.

L'invention vise également un procédé de préparation de la composition définie ci-dessus.

Le procédé est caractérisé en ce qu'il comprend une étape de fusion du chocolat utilisé, d'addition de l'hydrolysate, de préférence sous forme de poudre, dans le chocolat fondu, les ingrédients étant soumis à agitation pour former un mélange homogène.

Le mélange obtenu est ensuite conditionné comme souhaité et, par exemple, coulé dans des moules et laissé à refroidir.

Selon un autre aspect, l'invention vise en outre la mise profit des propriétés des compositions ainsi obtenues dans les domaines alimentaires, nutraceutiques compléments alimentaires ou pharmaceutiques.

Les formulations seront alors adaptées au domaine concerné.

Des études réalisées sur des hydrolysats peptidiques de produits de la mer ont mis en évidence des effets anti-stress puissants, similaires à ceux de médicaments anti-stress et avec une très grande sécurité. Aucun effet sédatif et aucune toxicité n'ont été mis en évidence, même à très fortes doses.

Il suffit de quelques grammes du mélange chocolat/hydrolysat de peptides de poissons pour atteindre les doses journalières recommandées pour une action anti-stress efficace.

Pour l'homme, ou la femme adulte, la dose journalière recommandée pour une action anti-stress est comprise entre 150 à 300 mg par jour.

Pour une action sur la libido, la dose journalière de composition renfermant des hydrolysats d'amande de mer (Glycymeris glycymeris) est de 100 à 200 mg par jour, notamment d'environ 150 mg.

Il suffit donc avec les compositions de l'invention :

- de 3 à 6 doses journalières de 5 g de chocolat mélangé à 1 % d'hydrolysat pour atteindre la dose journalière recommandée pour une action anti-stress et ceci sans que le goût ni l'odeur de l'hydrolysat ne soient perceptibles ;

ou

- de 2 à 4 doses journalières de 5 g de chocolat mélangé avec 1,5 % d'hydrolysat pour atteindre la dose journalière recommandée pour une action anti-stress, et ceci avec un goût et une odeur de l'hydrolysat suffisamment masqués pour que le goût et l'odeur du mélange final restent agréables.

De plus, il est démontré scientifiquement que le chocolat, et en particulier, le chocolat noir, a par lui-même une action anti-stress. En effet, plusieurs des composants du chocolat ont un effet euphorisant et créent un état de mieux-être. Le chocolat contient des substances très similaires à celles que produit notre cerveau pour déclencher la sensation de plaisir. La présence de sérotonine et phényléthylamine dans le chocolat expliquent vraisemblablement son action anti-stress. De plus, le chocolat, et en particulier le chocolat noir, est riche en magnésium (il y a environ 112 mg de magnésium dans 100 g de chocolat noir, ce qui correspond à un

tiers des apports journaliers recommandés). Le magnésium est nécessaire au fonctionnement du système nerveux, et c'est la raison pour laquelle le magnésium est fréquemment incorporé dans les compléments alimentaires anti-stress ou les médicaments anxiolytiques.

Les substances anti-stress se trouvant essentiellement dans le cacao, le chocolat noir, qui est plus riche en cacao que le chocolat au lait, est particulièrement préféré pour aider à lutter contre le stress.

L'hydrolysate anti-stress et le chocolat sont deux produits qui se complètent parfaitement puisqu'ils ont chacun indépendamment une action anti-stress prouvée. Pris ensemble, l'hydrolysate de poisson et le chocolat agissent ainsi en synergie contre le stress.

Cependant, il est intéressant de noter que les synergies entre les hydrolysats et le chocolat ne se limitent pas à cet exemple. Il existe également des synergies entre les hydrolysats qui ont des propriétés anti-oxydantes et le chocolat qui a aussi des propriétés anti-oxydantes significatives.

Comme autre application d'intérêt, on citera les effets des compositions de l'invention sur la libido aussi bien chez l'Homme que chez la Femme.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention sont donnés dans l'exemple ci-après à titre illustratif.

Exemple : Préparation d'un produit à base d'hydrolysate de poisson

On utilise 10 kg de chocolat, de préférence du chocolat noir, que l'on fait chauffer à environ 45°C. On pèse 100 g de poudre sèche d'hydrolysate de poisson que l'on verse dans le chocolat fondu. On maintient la température et on mélange pendant environ 15 min de façon à obtenir un mélange homogène.

Lorsque le mélange est bien homogène, on tempère le chocolat et on le coule dans des moules permettant d'obtenir des doses de 5 g. On laisse refroidir jusqu'à ce que le
5 chocolat soit durci. Lorsque le refroidissement est terminé, on démoule et on conditionne les doses. On constate que, pour les quantités d'hydrolysats indiquées, le chocolat cristallise normalement et, avec un tempérage standard, le beurre de cacao cristallise bien dans la forme bêta qui correspond à la forme
10 cristalline la plus stable du chocolat.

Cette préparation est donnée à titre d'exemple et peut être réalisée avec toute autre poudre sèche d'hydrolysats et, en particulier, celles réalisées par hétérolyse.

REVENDICATIONS

1. Composition à base d'hydrolysats peptidiques,
5 caractérisée en ce qu'elle renferme, selon un mélange homogène, une combinaison d'hydrolysats de mélange de peptides.

2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le pourcentage en poids des hydrolysats peptidiques
10 dans la composition n'excède pas 2%, de préférence n'excède pas 1,5%.

3. Composition selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que les hydrolysats utilisés pour son élaboration sont sous forme de poudre et le chocolat est du
15 chocolat noir, du chocolat au lait ou du chocolat blanc.

4. Composition selon la revendication 3, caractérisée en ce que ledit chocolat se présente sous forme de poudre, de chocolat à croquer, de pastilles, de pépites de couverture, ou d'enrobage.

20 5. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que les hydrolysats sont obtenus par hétérolyse enzymatique de produits de la mer.

6. Composition selon la revendication 5, caractérisée en ce que les produits de la mer sont choisis parmi les
25 poissons, crustacés, mollusques ou algues.

7. Procédé d'élaboration d'une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce qu'il comprend une étape de fusion du chocolat utilisé, d'addition de l'hydrolysate, de préférence sous forme de
30 poudre, dans le chocolat fondu, les ingrédients étant soumis à agitation pour former un mélange homogène.

8. Application d'une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 dans le domaine alimentaire.

9. Application d'une composition selon l'une quelconque

des revendications 1 à 6 dans le domaine nutraceutique.

10. Application d'une composition selon l'une
quelconque des revendications 1 à 6 dans le domaine des
5 compléments alimentaires.

11. Application d'une composition selon l'une
quelconque des revendications 1 à 6 dans le domaine
pharmaceutique.

12. Méthode pour masquer le goût et l'odeur
10 d'hydrolysats peptidiques, en particulier d'hydrolysats des
produits de la mer, caractérisée en ce qu'elle comprend
l'utilisation de chocolat.