



(12) **DEMANDE DE BREVET CANADIEN
CANADIAN PATENT APPLICATION**

(13) **A1**

(86) Date de dépôt PCT/PCT Filing Date: 2020/06/26
(87) Date publication PCT/PCT Publication Date: 2020/12/30
(85) Entrée phase nationale/National Entry: 2021/12/16
(86) N° demande PCT/PCT Application No.: FR 2020/051122
(87) N° publication PCT/PCT Publication No.: 2020/260841
(30) Priorité/Priority: 2019/06/28 (FR19 07143)

(51) Cl.Int./Int.Cl. *A23J 1/14* (2006.01),
A23J 3/14 (2006.01), *A23L 11/30* (2016.01),
A23L 33/185 (2016.01)
(71) Demandeur/Applicant:
ROQUETTE FRERES, FR
(72) Inventeurs/Inventors:
CALMON, LUCILE, FR;
LECOCQ, ALINE, FR
(74) Agent: SMART & BIGGAR LLP

(54) Titre : PROCEDE DE PRODUCTION DE PROTEINE DE LEGUMINEUSE
(54) Title: METHOD FOR PRODUCING LEGUMINOUS PROTEIN

(57) **Abrégé/Abstract:**

L'invention relève du domaine des protéines végétales. L'invention concerne en particulier un procédé de production de composition protéique de légumineuse, de préférence de pois, comprenant un pré-traitement thermique à sec des graines de légumineuses à une température comprise entre 70 et 130°C pendant 1 à 6 minutes suivi d'un broyage des graines en farine, de mise en suspension de la farine dans une solution aqueuse, de séparation des composants solubles de la suspension et d'extraction de protéines desdits composants solubles, ainsi que la composition protéique susceptible d'être obtenue par cette méthode.



(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
30 décembre 2020 (30.12.2020)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2020/260841 A1

(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)

(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2020/051122

Publiée:

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

(22) Date de dépôt international :

26 juin 2020 (26.06.2020)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

19 07143

28 juin 2019 (28.06.2019)

FR

(71) Déposant : **ROQUETTE FRERES** [FR/FR] ; 1 rue de la
Haute Loge, 62136 LESTREM (FR).(72) Inventeurs : **CALMON, Lucile** ; 7 rue de Toul Apparte-
ment 53, 59800 LILLE (FR). **LECOCQ, Aline** ; 62 rue Né-
grier, 59420 MOUVAUX (FR).(74) Mandataire : **PLASSERAUD IP** ; 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT,
TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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), eurasien (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

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING LEGUMINOUS PROTEIN

(54) Titre : PROCÉDÉ DE PRODUCTION DE PROTÉINE DE LÉGUMINEUSE

(57) Abstract: The invention falls within the the field of plant proteins. The invention concerns, in particular, a method for producing a leguminous protein composition, preferably of peas, comprising a dry heat pretreatment of leguminous seeds at a temperature between 70 and 130°C for 1 to 6 minutes followed by grinding the seeds into flour, forming a suspension of the flour in an aqueous solution, separating the soluble components from the suspension and extracting proteins from the soluble components, as well as the protein composition that can be obtained by this method.

(57) Abrégé : L'invention relève du domaine des protéines végétales. L'invention concerne en particulier un procédé de production de composition protéique de légumineuse, de préférence de pois, comprenant un pré-traitement thermique à sec des graines de légumineuses à une température comprise entre 70 et 130°C pendant 1 à 6 minutes suivi d'un broyage des graines en farine, de mise en suspension de la farine dans une solution aqueuse, de séparation des composants solubles de la suspension et d'extraction de protéines desdits composants solubles, ainsi que la composition protéique susceptible d'être obtenue par cette méthode.



WO 2020/260841 A1

Description

Titre : Procédé de production de protéine de légumineuse

Domaine technique

[0001] L'invention relève du domaine des protéines végétales. L'invention
5 concerne en particulier un procédé de production de composition protéique de légumineuse, de préférence de pois, et la composition protéique susceptible d'être obtenue par cette méthode.

Technique antérieure

[0002] Les besoins quotidiens humains en protéines sont compris entre 12 et
10 20% de la ration alimentaire. Ces protéines sont fournies aussi bien par des produits d'origine animale (viandes, poissons, œufs, produits laitiers) que par des produits d'origine végétale (céréales, légumineuses, algues).

[0003] Cependant, dans les pays industrialisés, les apports en protéines sont majoritairement sous la forme de protéines d'origine animale. Or, de nombreuses
15 études démontrent qu'une consommation excessive de protéines d'origine animale au détriment des protéines végétales est une des causes d'augmentation de cancers et maladies cardio-vasculaires.

[0004] Par ailleurs, les protéines animales présentent beaucoup de désavantages, tant sur le plan de leur allergénicité, concernant notamment les
20 protéines issues du lait ou des œufs, que sur le plan environnemental en relation avec les méfaits de l'élevage intensif.

[0005] Ainsi, il existe une demande croissante des industriels pour des composés d'origine végétale possédant des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles intéressantes sans pour autant présenter les inconvénients de composés d'origine
25 animale.

[0006] Le soja a été, et reste, la première alternative végétale aux protéines animales. L'utilisation du soja possède néanmoins des désavantages certains. La graine de soja est plus que fréquemment d'origine OGM et l'obtention de sa protéine passe par une étape de déshuilage utilisant du solvant.

[0007] Depuis les années 70, les légumineuses à graines, dont en particulier le pois, se sont fortement développées en Europe, majoritairement en France, comme ressource protéique alternative aux protéines animales à destination de l'alimentation animale et humaine. Le pois contient environ 27 % en poids de matières protéiques. 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). Ces graines sont non-OGM et ne nécessitent pas de déshuilage solvanté.

[0008] La protéine de pois, majoritairement de la globuline de pois, est extraite et valorisée industriellement depuis bon nombre d'années. On peut citer, comme exemple de procédé d'extraction de la protéine de pois, le brevet EP1400537. Dans ce procédé, la graine est broyée en absence d'eau (procédé dit de « broyage à sec ») afin d'obtenir une farine. Cette farine sera ensuite mise en suspension dans de l'eau afin d'en extraire la protéine.

[0009] Malgré ses qualités indéniables, la protéine extraite du pois souffre, en comparaison des protéines animales, de saveurs dites « pois », « beany » ou « végétale ». Cette saveur est un frein indéniable dans bon nombre d'applications industrielles, en particulier alimentaires.

[0010] C'est notamment le cas dans le domaine des boissons dans lequel l'amélioration du profil organoleptique est essentiel car il est particulièrement difficile de masquer les saveurs de la protéine : l'ajout de constituants additionnels peut en effet avoir pour conséquence une modification de la viscosité, de la stabilité en solution et/ou de la palatabilité de la boisson. Par ailleurs, il est avantageux que la protéine présente un pouvoir gélifiant faible, voire une viscosité faible, permettant une augmentation de la teneur en protéine sans résulter en une boisson qui ne gélifie pas ou n'est pas trop épaisse.

[0011] Suite à de nombreuses études, il a été clairement mis en évidence qu'une des causes principales de ces saveurs non désirées provient de la synthèse

d'aldéhydes et/ou de cétones (en particulier l'hexanal) consécutive de l'action d'une lipoxygénase interne sur les lipides résiduels lors de l'extraction des protéines. Les saponines et les 3-alkyl-2-méthoxypyrazines sont également des catégories de composés générant ces saveurs non désirées (« Flavor aspects of pulse Ingredients », Wibke S.U. Roland, 2017).

[0012] L'homme de l'art a donc élaboré plusieurs solutions permettant d'améliorer la saveur d'une protéine de pois commerciale et de lui redonner un goût neutre. Une première solution repose sur le masquage de la saveur par adjonction de composés chimiques sélectionnés à cette intention : cette solution oblige l'utilisateur à introduire dans sa formulation un composé qu'il ne désirait pas forcément introduire et qui peut être source de problèmes réglementaire et/ou allergènes. Une autre solution est décrite dans le brevet US4,022,919 qui enseigne dès les années 1970 qu'un traitement de ladite protéine de pois avec de la vapeur d'eau permet l'obtention d'une protéine dont la saveur est améliorée. Néanmoins, on peut reprocher à ce procédé le risque d'une modification des qualités fonctionnelles des protéines obtenues par dénaturation thermique (par exemple la perte de solubilité ou l'augmentation de sa capacité d'hydratation) ainsi que l'obligation d'ajout d'une étape de purification nécessaire avant utilisation. Ces solutions sont donc efficaces mais elles obligent l'utilisateur final des protéines à effectuer des opérations de purification supplémentaire, susceptibles de modifier les fonctionnalités de la protéine de pois. L'homme de l'art a donc bien évidemment cherché à obtenir directement et simplement lors de son procédé d'extraction une protéine de pois dont la saveur est neutre.

[0013] De nombreuses solutions potentielles ont été explorées dont, de manière non exhaustive, la sélection de cultivars de pois comportant moins de lipoxygénase ou bien la pré-germination des pois préalablement à l'extraction des protéines. On peut plus récemment évoquer la demande de brevet WO2017/120597 qui décrit un procédé incluant une précipitation par ajout de sels, plusieurs lavages, et une récupération par centrifugation. En dépit d'un procédé complexe utilisant de grande quantité d'eau (pouvant aller jusqu'à 30 fois la

quantité de pois), les flaveurs « beany » et « bitter » sont toujours présentes dans la protéine de pois (voir graphes 18A, B et C de la demande WO2017/120597).

- [0014]** La lipoxygénase et les saponines étant sensibles à la température, l'ajout d'un traitement thermique additionnel lors de l'étape d'extraction consistant en un
- 5 chauffage en milieu humide (blanchiment), combiné éventuellement avec une étape de trempage a été envisagé dans le document WO 2019/053387. Malheureusement, ces étapes mettent en œuvre des quantités d'eau importantes et génèrent des coproduits solubles qu'il faut valoriser. Par ailleurs, l'utilisation de ce procédé ne permet pas de fabriquer des protéines au pouvoir gélifiant réduit.
- 10 **[0015]** Le « roasting » ou chauffage à sec (également appelé toastage) est utilisé dans la filière voisine du soja. Une problématique importante pour la filière pois consiste en la préservation de l'amidon de pois qui ne doit pas être dégradé afin d'être également valorisé industriellement. La graine de soja ne possède pas d'amidon : la filière soja peut donc utiliser des températures de chauffage très
- 15 élevées afin d'inhiber la lipoxygénase sans se soucier de la problématique amidon.
- [0016]** Le chauffage de la graine peut également provoquer des modifications fonctionnelles de la protéine (par exemple solubilité ou pouvoir émulsifiant), empêchant certaines valorisations, particulièrement en alimentaire.
- [0017]** Il est donc d'intérêt d'obtenir une protéine de légumineuse, en particulier
- 20 un isolat protéique de légumineuse, encore plus particulièrement un isolat protéique de pois dont l'aromatique est améliorée, tout en proposant un procédé d'extraction optimisé et des fonctionnalités garanties.

Exposé de l'invention

- [0018]** Les inventeurs ont montré qu'une étape préalable de traitement thermique
- 25 des graines entre 70 et 130 °C pendant de 1 à 6 minutes, avantageusement entre 100 et 120°C pendant 2 à 4 minutes permettait d'inhiber l'activité de la lipoxygénase interne tout en préservant la fonctionnalité de l'amidon et en garantissant le rendement d'extraction des différents composants. Le procédé mis au point par les inventeurs permet d'obtenir une composition protéique de
- 30 légumineuse dont les propriétés fonctionnelles sont particulièrement adaptées aux

applications de boissons enrichies en protéines : organoleptique améliorée, pouvoir gélifiant diminué et pouvoir émulsifiant amélioré.

[0019] Selon un premier aspect de l'invention, il est proposé un procédé de production d'une composition protéique de légumineuse comprenant les étapes

5 suivantes :

i) traitement thermique à sec des graines de légumineuse, de préférence choisies parmi le pois, le lupin et la féverole à une température comprise entre 70 et 130 °C, par exemple entre 80 et 125°C, notamment entre 100°C et 120°C, pendant 1 à 6 minutes, par exemple 1,5 à 5 minutes, notamment 2 à 4 minutes ;

10 ii) broyage des graines en farine et mise en suspension de la farine dans une solution aqueuse, de préférence à une concentration de 15 à 25%, encore de préférence 20% en poids de matière sèche par rapport au poids de la suspension, iii) séparation des composants solubles de ladite suspension par force centrifuge, iv) extraction des protéines des composants solubles.

15 **[0020]** Dans un mode préféré, l'extraction des protéines de ladite fraction comprend une étape de coagulation des protéines dans une solution aqueuse à un pH compris entre 4 et 6 et traitement thermique de la solution entre 45°C et 65°C, de préférence 55°C, notamment pendant 3,5 min à 4,5 min, de préférence 4 min. De préférence, les protéines coagulées sont récupérées, de préférence par
20 centrifugation, et mise en suspension dans une solution aqueuse. Le pH de la solution aqueuse de protéines coagulées peut ensuite être ajusté entre 6 et 8, de préférence 7, et la suspension aqueuse peut être soumise à un traitement thermique entre 130 et 150°C, de préférence 140°C pendant 5 à 15s, de préférence 10s. Le procédé peut comprendre en outre une étape de séchage de
25 la suspension aqueuse des protéines coagulées.

[0021] Selon un autre aspect, il est proposé une composition protéique de légumineuse susceptible d'être obtenue selon un procédé tel que décrit dans le premier aspect de ladite invention.

[0022] Selon un dernier aspect de l'invention, il est proposé les utilisations
30 industrielles, en particulier alimentaires animales et humaines, de la composition

protéique susceptible d'être obtenue selon un procédé tel que décrit dans le premier aspect de ladite invention.

[0023] L'invention sera mieux comprise grâce à la description détaillée ci-dessous

5 Brève description des dessins

Fig. 1

[0024] [Fig. 1] montre le profil d'analyse de la viscosité des compositions protéiques obtenues par un procédé comprenant un traitement thermique des graines de 4min à 100°C ou 2 min à 120°C ou sans traitement thermique.

10 Description des modes de réalisation

[0025] Selon un premier aspect de l'invention, il est donc proposé un procédé de production d'une composition protéique de légumineuse comprenant les étapes suivantes :

- i) chauffage des graines de légumineuse à sec, de préférence choisies parmi le
15 pois, le lupin et la féverole, à une température comprise entre 70 et 130 °C, par exemple entre 80 et 125°C, notamment entre 100°C et 120°C, pendant 1 à 6 minutes, par exemple 1,5 à 5 minutes, notamment 2 à 4 minutes ;
- ii) broyage des graines en farine et mise en suspension dans une solution aqueuse;
- 20 iii) séparation des composants solubles de la dite suspension aqueuse, de préférence par force centrifuge;
- iv) extraction des protéines dans les composants solubles.

[0026] Le terme « composition protéique » doit se comprendre dans la présente demande comme une composition obtenue par extraction et raffinage, la dite
25 composition comportant des protéines, macromolécules formées d'une ou de plusieurs 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% des protéines du pois). Les

globulines de pois se subdivisent principalement en trois sous-familles : les légumineuses, les vicilines et les convicilines.

[0027] Par « légumineuse », on comprendra dans la présente demande la famille de plantes dicotylédones de l'ordre des Fabales. C'est l'une des plus importantes familles de plantes à fleurs, la troisième après les Orchidaceae et les Asteraceae par le nombre d'espèces. Elle compte environ 765 genres regroupant plus de 19 500 espèces. Plusieurs légumineuses sont d'importantes plantes cultivées parmi lesquelles le soja, les haricots, les pois, le pois chiche, la féverole, l'arachide, la lentille cultivée, la luzerne cultivée, différents trèfles, les fèves, le caroubier, la réglisse, le lupin.

[0028] Selon un mode préférentiel de l'invention, la protéine de légumineuse est choisie dans le groupe constitué du pois, du haricot, de la fève et de la féverole et leurs mélanges, de préférence le pois.

[0029] Le terme « pois » comprend en particulier toutes les variétés sauvages de « pois lisses » et toutes les variétés mutantes de « pois lisses » et de « pois ridés ».

Lorsque la légumineuse choisie est le pois, les pois peuvent subir préalablement aux étapes de chauffage et de broyage du procédé selon l'invention 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.) et aussi un dépelliculage des fibres externes (également appelé « dehulling » en anglais). entre 70 et 130 °C, par exemple entre 80 et 125°C, notamment entre 100°C et 120°C, pendant 1 à 6 minutes, par exemple 1,5 à 5 minutes, notamment 2 à 4 minutes ;

[0030] Le procédé selon l'invention comprend une étape i) consistant en un traitement thermique des graines à une température comprise entre 70 et 130 °C, par exemple entre 80 et 125°C, notamment entre 100°C et 120°C, pendant un temps de 1 à 6 minutes, par exemple de 1,5 à 5 minutes, notamment compris entre 2 et 4 minutes. Ce traitement thermique est un traitement thermique à sec, c'est-à-dire qu'il se déroule en absence de solvant aqueux additionnel à celui présent dans la graine. Ce traitement thermique à sec, ou de toastage, diffère d'un

traitement micro-ondes en ce que la chaleur est apportée par convection, ce qui permet un contrôle précis du traitement thermique des graines (temps et température). Ce traitement thermique à sec est particulièrement avantageux car il peut être réalisé facilement, sans par exemple contrôle de l'humidité relative.

- 5 Comme exemplifié dans la présente demande, il est important de bien respecter les intervalles de temps et température afin de pouvoir inhiber l'activité de la lipoxigénase interne tout en préservant la fonctionnalité de l'amidon et en garantissant le rendement d'extraction des différents composants.

[0031] Le respect de cette étape de traitement thermique préalable à ces
10 conditions particulières, ainsi que de celles des différentes étapes de ce procédé, permet également l'obtention d'une composition protéique dont les propriétés fonctionnelles sont particulièrement adaptées aux applications de boissons enrichies en protéines : organoleptique améliorée, pouvoir gélifiant diminué et pouvoir émulsifiant amélioré.

- 15 **[0032]** Dans un mode encore plus préféré, la température est comprise entre 110 et 120°C, par exemple de 120°C. Ce choix permet d'obtenir une viscosité de composition protéique très basse, ce qui est un avantage supplémentaire dans certaines applications alimentaires telles que les boissons hyperprotéinées.

[0033] Cette étape se termine optionnellement par l'élimination des fibres
20 externes du pois (enveloppe externe cellulosique) par une étape bien connue également appelée « dehulling ».

[0034] Le procédé selon l'invention comprend une étape ii) de broyage des graines en farine et mise en suspension dans une solution aqueuse.

- [0035]** Le broyage est effectué par tout type de technologie adéquate connu de
25 l'homme du métier tel que des broyeurs à billes, des broyeurs coniques, des broyeurs hélicoïdaux, des broyeurs à jets d'air ou bien des systèmes rotor/rotor.

[0036] Lors du broyage, de l'eau peut être ajoutée de manière continue ou discontinue, au début, au milieu ou en fin de broyage, afin d'obtenir en fin d'étape une suspension aqueuse de pois broyés titrant entre 15% et 25% en poids de

matière sèche (MS), préférentiellement 20% en poids de MS, par rapport au poids de ladite suspension.

[0037] En fin de broyage, un contrôle du pH peut être effectué. De préférence, le pH de la suspension aqueuse de pois broyés en fin d'étape ii) est ajusté entre 8 et 10, préférentiellement le pH est ajusté à 9. La rectification de pH peut être effectuée par ajout d'acide et/ou de base, par exemple de la soude ou de l'acide chlorhydrique. L'utilisation d'acide ascorbique, d'acide citrique ou de potasse et de soude sont préférés.

[0038] Le procédé selon l'invention consiste ensuite en une étape iii) de séparation des composants solubles de la suspension aqueuse, de préférence par force centrifuge. Cette étape permet de séparer les fractions solubles des fractions insolubles de la suspension. Les fractions insolubles sont majoritairement constituées d'amidon et de polysaccharides appelés « fibres internes ». Les protéines sont concentrées dans la fraction soluble (surnageant).

[0039] Amidon et fibres peuvent également être séparés en réalisant une première étape de tamisage pour éliminer les fibres internes du pois. Cette première étape est rendue nécessaire par le fait que les fibres internes du pois se lient très facilement à l'amidon et aux protéines du pois. Il faut alors multiplier les lavages de ces fibres afin d'en extraire l'amidon ou les protéines associées. Après cette étape de tamisage, on effectue une centrifugation de la suspension débarrassée des fibres internes pour générer une « phase légère » contenant majoritairement les protéines, et une « phase lourde » contenant majoritairement l'amidon.

[0040] Le procédé selon l'invention comprend une étape iv) d'extraction des protéines des composants solubles. La dite extraction peut être réalisée par tout type de procédé adéquat, tel que notamment la précipitation à pH isoélectrique des protéines ou encore la thermocoagulation par chauffage.

[0041] De manière préférentielle, l'extraction des protéines consiste en une étape de coagulation des protéines dans une solution aqueuse à un pH compris entre 4 et 6, préférentiellement 5, suivi d'un chauffage à une température comprise entre 45 et 65°C, préférentiellement 55°C.

[0042] Le temps de contact peut être compris entre 1 min et 30 minutes, par exemple entre 1 min et 10 min, préférentiellement entre 3 min et 5 min, encore plus préférentiellement 5 min. Le but est ici de séparer les protéines de pois d'intérêt des autres constituants du surnageant de l'étape iv). Il est capital de bien
5 contrôler le barème temps/température.

[0043] De manière préférée, le chauffage est réalisé par injection indirecte de vapeur, par exemple dans une double-enveloppe équipant une cuve agitée.

[0044] Les protéines coagulées également appelées floc protéique coagulé peuvent ensuite être récupérées par centrifugation. On sépare ainsi les fractions
10 solides ayant concentré les protéines, des fractions liquides ayant concentré les sucres et les sels. Le floc est ensuite mis en suspension dans une solution aqueuse de préférence diluée avec de l'eau. La matière sèche est alors ajustée entre 10% et 20%, préférentiellement 15% en poids de matière sèche par rapport au poids de ladite suspension.

[0045] On peut rectifier ensuite le pH du floc protéique à une valeur comprise entre 6 et 8, préférentiellement 7. Le pH est ajusté à l'aide de tout réactif(s) acide(s) et basique(s). L'utilisation d'acide ascorbique, d'acide citrique ou de potasse et de soude sont préférés.

[0046] On peut réaliser ensuite un traitement thermique entre 130°C et 150°C, préférentiellement 140°C, pendant entre 5s et 15s, préférentiellement 10s.
20

[0047] L'extraction des protéines peut se conclure de manière préférentielle par un séchage à l'aide de toute technique connue de l'homme du métier. De manière préférée, le floc protéique coagulé est séché pour atteindre une matière sèche supérieure à 80%, préférentiellement supérieure à 90% en poids de protéines par rapport au poids de ladite matière sèche. On utilise pour ce faire toute technique
25 bien connue de l'homme du métier comme par exemple la lyophilisation ou bien encore l'atomisation. L'atomisation est la technologie préférée, en particulier l'atomisation à multiple effet.

[0048] La teneur en matière sèche est mesurée par toute méthode bien connue
30 de l'homme de l'art. De manière préférentielle, la méthode dite « par dessiccation

» est utilisée. Elle consiste à déterminer la quantité d'eau évaporée par chauffage d'une quantité connue d'un échantillon de masse connue : On pèse l'échantillon au départ et on mesure une masse m_1 en g ; On évapore l'eau en plaçant l'échantillon dans une enceinte chauffée jusqu'à stabilisation de la masse de l'échantillon, l'eau étant complètement évaporée (de préférence, la température est de 105°C sous pression atmosphérique), on pèse l'échantillon final et on mesure une masse m_2 en g. La matière sèche est obtenue par le calcul suivant : $(m_2 / m_1) \times 100$.

[0049] Selon un second aspect de l'invention, il est donc proposé une composition protéique de légumineuse, dans laquelle la légumineuse est notamment choisie parmi le pois, le lupin et la féverole, susceptible d'être obtenue selon un procédé tel que décrit dans le premier aspect de ladite invention.

[0050] De manière préférentielle, la composition protéique de légumineuse selon l'invention présente une richesse en protéine supérieure à 80%, préférentiellement supérieure à 85%, encore plus préférentiellement supérieure à 90% en poids de protéines par rapport au poids total de la matière sèche.

[0051] La richesse en protéine est mesurée par toute technique bien connue de l'homme du métier. De préférence, on réalise un dosage de l'azote total (en pourcentage en poids d'azote par rapport au poids sec total de la composition) et on 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.

[0052] Comme exemplifié ci-dessous, la composition protéique selon l'invention est innovante car son profil organoleptique est amélioré, en particulier la composante « végétale » ou « beany ». Cette composante est classiquement évaluée à l'aide d'un panel de dégustation organoleptique. On peut également caractériser cette différence en analysant les composés volatils à l'aide d'une chromatographie en phase gaz équipée d'un spectrophotomètre de masse.

[0053] Cette composition peut également être caractérisée par un pouvoir gélifiant optimisé, en ce qu'il est réduit d'un facteur d'environ 2 par rapport à une

composition protéique de légumineuse obtenue par un procédé de production ne comprenant pas d'étape de traitement thermique des graines de légumineuse.

- [0054]** Par « pouvoir gélifiant », on entend la propriété fonctionnelle consistant en l'habilité d'une composition protéique à former un gel ou un réseau, faisant
- 5 augmenter la viscosité et faisant générer un état de la matière intermédiaire entre les états liquides et solides. On peut également utiliser le terme « force de gel ». Pour quantifier ce pouvoir gélifiant, il est donc nécessaire de générer ce réseau et d'évaluer sa force. Pour effectuer cette quantification, dans la présente invention, on utilise le test A dont la description est la suivante :
- 10 1) Solubilisation à 60°C +/- 2°C de la composition protéique testée dans de l'eau titrant 15% +/- 2% en matière sèche et à pH 7;
- 2) Agitation pendant 5 min à 60°C +/- 2°C;
- 3) Refroidissement à 20°C +/- 2°C et agitation durant 24 heures à 350 tr/min;
- 4) Mise en œuvre de la suspension dans un rhéomètre à contrainte imposée
- 15 équipé avec un cylindre concentrique;
- 5) Mise en œuvre d'un profil de température suivant:
- a. Phase 1: chauffage d'une température de 20°C +/- 2°C à une température de 80°C +/- 2°C en 10 minutes;
- b. Phase 2: stabilisation à une température de 80°C +/- 2°C pendant 120 minutes;
- 20 c. Phase 3: refroidissement d'une température de 80°C +/- 2°C à une température de 20°C +/- 2°C en 30 min
- 6) Mesure du pouvoir gélifiant exprimé en Pa.

- [0055]** De manière préférée, les rhéomètres à contrainte imposée est le modèle AR 2000 de TA instruments, équipé d'une géométrie Duvet et d'un système de
- 25 régulation de température à effet Peltier. Afin d'éviter les problèmes d'évaporation à haute température, de l'huile de paraffine est ajoutée sur les échantillons.

- [0056]** Un « rhéomètre » au sens de l'invention est un appareil de laboratoire capable de faire des mesures relatives à la rhéologie d'un fluide ou d'un gel. Il applique une force à l'échantillon. Généralement de faible dimension
- 30 caractéristique (très faible inertie mécanique du rotor), il permet d'étudier

fondamentalement les propriétés mécaniques d'un liquide, d'un gel, d'une suspension, d'une pâte, etc., en réponse à une force appliquée.

[0057] Les modèles dits « à contrainte imposée » permettent, en appliquant une sollicitation sinusoïdale (mode oscillation), de déterminer les grandeurs viscoélastiques intrinsèques de la matière, qui dépendent notamment du temps (ou de la vitesse angulaire ω) et de la température. En particulier, ce type de rhéomètre permet d'accéder au module complexe G^* , permettant lui-même d'avoir accès aux modules G' ou partie élastique et G'' ou partie visqueuse.

[0058] Cette composition peut également être caractérisée par un pouvoir émulsifiant optimisé, en ce qu'il est augmenté d'un facteur d'environ 2 par rapport à une composition protéique de légumineuse obtenue par un procédé de production ne comprenant pas d'étape de traitement thermique des graines de légumineuse.

[0059] Par « pouvoir émulsifiant », ou également « capacité émulsifiante », on entend 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 :

- 20 - 0,2g d'échantillon du produit est dispersé dans 20ml d'eau,
- La solution est homogénéisée avec un appareil Ultraturax IKA T25 pendant 30 sec à une vitesse de 9500 rpm,
- Ajout de 20ml d'huile de maïs sous homogénéisation dans les mêmes conditions que l'étape 2 précédente,
- 25 - Centrifugation 5 minutes à 3100g,
- Si on obtient une bonne émulsion, on recommence le test au point 1 en augmentant les quantités d'eau et de maïs de 50%,
- Si on obtient une mauvaise émulsion (déphasage), on recommence le test au point 1 en diminuant les quantités d'eau et de maïs de 50%,
- 30 - La quantité maximale d'huile (Q_{max} en ml) pouvant être émulsifiée est ainsi déterminée de manière itérative,

- La capacité émulsifiante est donc la quantité maximale d'huile de maïs pouvant être émulsifiée par grammes de produit,

- Capacité émulsifiante = $(Q_{\max} / 0,2) \times 100$

[0060] Selon un dernier aspect de l'invention, il est proposé les utilisations industrielles, en particulier alimentaires animales et humaines, de la composition protéique de légumineuse, préférentiellement de l'isolat protéique de légumineuse, choisi entre le pois, le lupin et la féverole, encore plus préférentiellement de l'isolat protéique de pois selon l'invention.

[0061] Comme exemplifié ci-dessous, les compositions protéiques obtenues en pratiquant le procédé selon l'invention peuvent être caractérisées par un profil organoleptique amélioré, une force de gel divisée par au moins un facteur 2 et un pouvoir émulsifiant au moins doublé en comparaison avec des compositions protéiques de légumineuse obtenues sans traitement thermique des graines de légumineuses. Ces caractéristiques sont particulièrement adaptées aux boissons enrichies en protéines telles que les RTD (« Ready To Drink »), les alternatives au lait base végétale ou bien les boissons en poudres à reconstituer ou « Powder-mix ».

[0062] L'amélioration du profil organoleptique est clé pour le consommateur final mais la baisse du pouvoir gélifiant permet également une augmentation de la teneur en protéique sans résulter en une boisson trop épaisse. Enfin, le pouvoir émulsifiant est également susceptible d'intérêt, p.e. afin de stabiliser des acides gras essentiels

[0063] L'invention sera mieux comprise à l'aide des exemples non-limitatifs ci-dessous.

25 Exemples

[0064] Exemple 1 : Influence des paramètres de chauffage des graines de légumineuse dans la méthode de production de protéine.

[0065] On utilisera pour cet exemple des graines de pois jaunes (*Pisum Sativum*) nettoyées et débarrassées de corps externes tels que les cailloux.

[0066] Plusieurs technologies de traitement thermique sont appliquées à fin comparative :

- Etuve ventilée, 2 à 10 min, 80° à 120°C
- Four micro-ondes, 30 s à 3 min, 1000W
- 5 - Autoclave, 5 à 15 min, 100°C à 120°C

[0067] Le procédé d'extraction des protéines et amidon suivant est ensuite appliqué :

- Séparation des fibres externes et des cotylédons de pois
- Broyage des cotylédons de pois à l'aide d'un moulin de pierre
- 10 - Mise en suspension de la farine dans de l'eau à 17% de matière sèche (MS), 20°C+/- 2°C et pH de 7 +/-1
- Agitation pendant 30 min
- Séparation des insolubles (amidon et fibres internes) par centrifugation 1000G 5min,
- 15 - Rectification à pH 5 du surnageant
- Chauffage à 55°C pendant 20 min dans un récipient équipé d'une double-enveloppe et d'une agitation,
- Récupération de la composition protéique par centrifugation 5000G 5min
- Rectification du pH à 7 avec NaOH 1N
- 20 - Traitement thermique par injection directe 140°C 10 secondes
- Séchage par atomisation

[0068] On réalise plusieurs mesures pour qualifier et comparer les différents procédés :

- Etat de dénaturation de l'amidon par DSC et mesure de l'enthalpie
- 25 - Calcul du rendement (Rdt) de récupération en protéines (Quantité de protéines extraites/quantité de protéines totales).
- Flaveur par dégustation. Cette composante est évaluée à l'aide d'un panel de dégustation organoleptique.

[0069] Les résultats sont présentés dans le tableau 1 suivant :

[0070] [Tableau 1]

Echantillons	Flaveur	Qualité amidon	Rdt Proteines
Etuve ventilée / 80°C / 10-60 min	brulé	Ok	Ok
Etuve ventilée / 120°C / 10-60 min	brulé +	Ok	Moyen
Etuve ventilée / 150°C / 10-60 min	brulé ++	Ok	Mauvais
Etuve ventilée / 80°C / 2 min	ok	Ok	Ok
Etuve ventilée / 80°C / 5 min	ok	Ok	Ok
Etuve ventilée / 120°C / 2 min	Ok	ok	Ok
Etuve ventilée / 120°C / 5 min	Ok	ok	ok
autoclavage / 5 min / 120°C	pois	Ok	Ok
autoclavage / 10 min / 110°C	pois	Ok	ok
autoclavage / 15 min / 100°C	Pois +	Ok	ok
micro-ondes / 1'30 min	brulé + / amère +	ok	ok
micro-ondes / 3 min	brulé ++ / amère ++	ok	ok
micro-ondes / 30 s	pois	ok	ok
micro-ondes / 60 s	brulé	ok	ok
micro-ondes / 90 s	Brulé +	ok	ok

[0071] Le prétraitement par chauffage à sec, permet d'améliorer la flaveur des protéines obtenues tout en préservant la fonctionnalité de l'amidon et en garantissant le rendement d'extraction des différents composants.

[0072] Exemple 2 : Exemples visant à démontrer l'effet d'un traitement thermique à sec sur la qualité de la composition protéique obtenue.

[0073] Le but de cet exemple est de démontrer l'effet d'un traitement thermique à sec sur la qualité de la composition protéique obtenue.

10 **[0074]** - Trois prétraitements des graines sont étudiés :

- a. Pas de prétraitement
- b. Etuve ventilée 4 min 100°C
- c. Etuve ventilée 2 min 120°C

- Séparation des fibres externes et des cotylédons de pois
- 15 - Broyage des cotylédons de pois à l'aide d'un moulin de pierre
- Mise en suspension de la farine dans de l'eau à 17% de MS, 20°C+/- 2°C et pH de 7 +/-1
- Agitation pendant 30 min
- Séparation des insolubles (amidon et fibres internes) par centrifugation 1000G 5

min

- Rectification à pH 5 du surnageant
- Chauffage à 55°C pendant 20 min dans un récipient équipé d'une double-enveloppe et d'une agitation
- 5 - Récupération de la composition protéique par centrifugation 5000G 5 min
- Rectification du pH à 7 avec NaOH 1N
- Traitement thermique par injection directe 140°C 10 secondes
- Séchage par atomisation.

[0075] On réalise plusieurs mesures pour qualifier et comparer les différents
10 essais :

- La teneur en matière sèche mesurée par dessiccation.
- La teneur en protéine calculée en dosant l'azote total et en multipliant le résultat par un coefficient de 6,25)
- Rendement de récupération protéique (quantité de protéine extraite/quantité de
15 protéine totale)
- Activité émulsifiante mesurée par le test développé par la Demanderesse décrit précédemment.
- Force de gel mesurée par le test A tel que décrit précédemment.

[0076] Les résultats sont résumés dans le tableau 2 ci-dessous :

20 **[0077]** [Tableau 2]

	MS (%)	N6,25 (%)	Rendement (%)	"Activité émulsifiante (ml huile / g)"	Force de gel (Pa)
Pas de prétraitement	96.4	91.3	72.2	250	104
Etuve ventilée / 4 min / 100°C	94.2	90.4	71.9	450	31
Etuve ventilée / 2 min / 120°C	97	91.1	74	550	51

[0078] Les compositions protéiques selon l'invention possèdent une capacité émulsifiante quasi-doublée et une force de gel réduite.

[0079] La viscosité des compositions protéiques sont mesurées à l'aide d'un
25 rhéomètre TA Instrument AR 2000 équipée d'une géométrie Duvet et d'un

système de régulation de température à effet Peltier. La mesure est réalisée à une température de 20°C et à un taux de cisaillement 0.006 à 600s⁻¹ en 3 min.

[0080] La composition protéique selon l'invention réalisée avec une température de 120°C possède également une viscosité plus réduite (figure 1).

- 5 **[0081]** Par ailleurs, un procédé similaire au procédé de fabrication de la composition protéique a. (celle obtenue sans prétraitement) est réalisé, en remplaçant le broyage des cotylédons de pois à l'aide d'un moulin à pierre par un broyage humide des cotylédons de pois tel que décrit dans le document WO 2019/053387 à l'exemple 1. Ce broyage consiste en la mise en œuvre des
- 10 cotylédons de pois dans une solution aqueuse à 80°C, le traitement thermique pendant 3 minutes en maintenant à cette température de ladite solution, la récupération puis le refroidissement à 10°C de ces pois en les plongeant dans de l'eau régulée à 7°C, puis le broyage de ces pois en solution. A l'issue du procédé est obtenue une composition protéique comparative présentant une force de gel
- 15 qui n'est pas diminuée par rapport au la composition protéique a.

Revendications

1. Procédé de production d'une composition protéique légumineuse comprenant les étapes suivantes :
 - i) traitement thermique à sec des graines de légumineuses à une température comprise entre 70 et 130 °C, par exemple entre 80 et 125°C, notamment entre 100°C et 120°C, pendant 1 à 6 minutes, par exemple de 1,5 à 5 minutes, notamment de 2 à 4 minutes;
 - ii) broyage des graines en farine et mise en suspension de la farine dans une solution aqueuse ;
 - iii) séparation des composants solubles de ladite suspension de préférence par force centrifuge ;
 - iv) extraction de protéines desdits composants solubles.
2. Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que la farine dans l'étape ii) est mise en suspension aqueuse à une concentration de 15 à 25% en poids de matière sèche, de préférence 20% en poids de matière sèche par rapport au poids de la suspension.
3. Procédé selon la revendication 1 ou 2 caractérisé en ce que l'étape iv) d'extraction des protéines comprend l'étape de :
 - coagulation des protéines dans une solution aqueuse à un pH compris entre 4 et 6 et traitement thermique de la solution entre 45°C et 65°C, de préférence 55°C.
4. Procédé selon la revendication 3 comprenant en outre les étapes de :
 - récupération des protéines coagulées de préférence par centrifugation et mise en suspension des protéines dans une solution aqueuse;
 - ajustement du pH de la solution aqueuse de protéines entre 6 et 8, préférentiellement 7;
 - traitement thermique de la solution aqueuse de protéine entre 130°C et 150°C, préférentiellement 140°C, pendant 5s à 15s, de préférence 10s.
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 comprenant en outre une étape de séchage de la suspension aqueuse des protéines.

6. Procédé de production selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 caractérisé en ce que les graines de légumineuse sont choisies parmi le pois, le lupin et la féverole.
7. Procédé de production selon la revendication 6 caractérisé en ce que les
5 graines de légumineuse sont des graines de pois.
8. Composition protéique de légumineuse susceptible d'être obtenue selon un procédé de production selon l'une quelconque des revendications 1 à 7.
9. Utilisation d'une protéine légumineuse selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 dans la fabrication d'aliments.

1/1

[Fig. 1]

