

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
—  
**INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE**  
—  
COURBEVOIE  
—

①1 N° de publication : **3 102 913**

(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : **19 12528**

⑤1 Int Cl<sup>8</sup> : **A 23 K 20/158** (2019.12), A 23 K 20/163, A 23 K 20/  
20, A 23 K 40/00, A 23 K 40/30

⑫

## BREVET D'INVENTION

**B1**

⑤4 Aliment ou complément alimentaire pour animaux d'élevage.

②2 Date de dépôt : 07.11.19.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public  
de la demande : 14.05.21 Bulletin 21/19.

④5 Date de la mise à disposition du public du  
brevet d'invention : 02.08.24 Bulletin 24/31.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche :

*Se reporter à la fin du présent fascicule*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

○ Demande(s) d'extension :

⑦1 Demandeur(s) : *HUDDLE CORP Société par actions  
simplifiée (SAS) — FR.*

⑦2 Inventeur(s) : EL HARRAK Abdeslam et CRETEL  
César, Adrien, Claude, René.

⑦3 Titulaire(s) : *HUDDLE CORP Société par actions  
simplifiée (SAS).*

⑦4 Mandataire(s) : REGIMBEAU.

**FR 3 102 913 - B1**



## **Description**

### **Titre de l'invention : Aliment ou complément alimentaire pour animaux d'élevage**

#### **Domaine de l'invention**

[0001] L'invention a pour objet un aliment ou un complément alimentaire pour animaux d'élevage monogastriques, notamment des poissons. En particulier, l'invention concerne des aliments ou compléments alimentaires permettant une libération contrôlée des substances actives qu'ils comportent.

#### **État de la technique**

[0002] Il est bien connu d'utiliser des substances physiologiquement actives pour compléter la nourriture d'animaux d'élevage pour améliorer l'équilibre nutritif des animaux, leur permettant d'accélérer leur croissance, et d'être plus robustes face aux risques sanitaires de l'élevage.

[0003] De telles substances physiologiquement actives peuvent être des protéines, des lipides, des glucides, mais également des vitamines et toute forme de supplémentation alimentaire visant les prébiotiques, probiotiques, acides aminés, antioxydants, ou autre molécules (i.e. huiles essentielles) à visée nutraceutique ou thérapeutique directe ou indirecte.

[0004] La diversité des conditions dans lesquelles les aliments sont ingérés et digérés nécessite une réponse adaptée à chaque espèce et à chaque stade de maturité des animaux.

[0005] Le document EP 1 696 736 B1 divulgue un produit d'enrichissement pour organismes aquatiques tels des Artémia ou de rotifers qui sont eux-mêmes utilisés comme nourriture pour des poissons au stade larvaire. Ce produit d'enrichissement a pour objectif d'augmenter dans les organismes aquatiques cibles le niveau d'acides gras notamment de types DHA et EPA. Il comprend une phase lipidique dispersée dans un gel aqueux de telle sorte que ce gel est soluble dans l'eau distillée à 20°C. Ce produit permet de libérer progressivement des globules de lipides stables lorsqu'il est plongé dans de l'eau. Les globules de lipides contiennent des produits actifs notamment des acides gras spécifiques. Ce produit d'enrichissement ne peut ainsi comporter que des produits liposolubles et non des produits hydrosolubles.

[0006] L'intérêt demeure donc pour des aliments ou des compléments alimentaires, intégrant une diversité importante de nutriments (protéines, lipides, vitamines, prébiotiques, probiotiques, etc...) dont les structures et les procédés de fabrication permettent de proposer une réponse adaptée à chaque espèce et à chaque stade de maturité des animaux.

[0007] En particulier, pour un aliment adapté à la nourriture et la croissance de poissons au stade larvaire qui comporte l'ensemble des substances actives et nutriments hydro-solubles et liposolubles nécessaires.

### **Description brève de l'invention**

[0008] L'invention a pour objet les produits et le procédé suivants :

1. Aliment ou complément alimentaire, sous forme d'objets à empilements modulaires permettant une libération contrôlée de substances nutritives et/ou physiologiquement actives pour animaux, comprenant un noyau avec une phase lipidique comportant des substances nutritives et/ou physiologiquement actives liposolubles, ladite phase lipidique étant sous forme de particules dispersées dans une matrice aqueuse gélifiée, **caractérisé en ce que** ladite phase aqueuse gélifiée est stable dans un milieu aqueux, **en ce que** ladite phase aqueuse gélifiée comporte des substances nutritives et/ou physiologiquement actives hydrosolubles et en ce ledit objet comporte un enrobage du noyau.

2. Aliment ou complément alimentaire selon la revendication 1, dans lequel ladite phase aqueuse comporte un polysaccharide fonctionnalisé présentant des charges négatives ou positives, avec une teneur comprise entre 1 et 4 % en poids par rapport au poids de ladite phase aqueuse.

3. Aliment ou complément alimentaire selon la revendication 2, dans lequel ladite phase aqueuse est gélifiée par réaction dudit polysaccharide chargé avec des réactifs tels un sel de calcium en présence de pyrophosphate ou deltagluconolactone, par libération de protons acides par hydrolyse aqueuse.

4. Aliment ou complément alimentaire selon la revendication 3, dans lequel le sel de calcium est choisi dans le groupe des carbonate, sulfate et stéarate de calcium.

5. Aliment ou complément alimentaire selon l'une des revendications 1 à 4, dans lequel la teneur de la phase lipidique dispersée dans la phase aqueuse est comprise entre 5 et 50 % en volume, et de préférence comprise entre 10 et 30 % en volume par rapport au volume de ladite phase aqueuse.

6. Aliment ou complément alimentaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel ladite phase aqueuse gélifiée comporte une charge minérale.

7. Aliment ou complément alimentaire selon la revendication 6, dans lequel ladite charge minérale est choisie dans le groupe des phyllosilicates et préférentiellement une smectite.

8. Aliment ou complément alimentaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel ladite phase lipidique est dispersée dans une phase aqueuse comportant des agents de surface.

9. Aliment ou complément alimentaire selon la revendication 8, dans lequel lesdits agents de surface sont des microfibrilles ou des nanofibrilles de cellulose ou de chitine

avec une teneur comprise entre 0,1 et 2% en poids, et préférentiellement entre 0,3 et 0,9 % en poids par rapport au poids de ladite phase aqueuse de dispersion de la phase lipidique.

10. Aliment ou complément alimentaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel ledit noyau comporte en surface des charges libres, dans lequel ledit enrobage dudit noyau comporte n couches de matériaux biocompatibles avec un système digestif chargés électrostatiquement alternativement positivement et négativement pour former des coacervats en empilement de couches, et dans lequel n est au moins égal à 1.

11. Aliment ou complément alimentaire selon la revendication 10, dans lequel les matériaux biocompatibles avec un système digestif sont des biopolymères chargés.

12. Aliment ou complément alimentaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel le noyau comporte un polymère chargé, ou des protéines avec des charges de surface ou des tensioactifs cationiques, anioniques ou zwitterioniques.

13. Aliment ou complément alimentaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la taille dudit objet est inférieure à 1 mm et de préférence comprise entre 50 et 400 micromètres.

14. Aliment ou complément alimentaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la taille desdites particules lipidiques est comprise entre 1 et 100 micromètres et de préférence comprise entre 1 et 10 micromètres.

15. Procédé de préparation d'un aliment ou d'un complément alimentaire sous forme d'objets à empilements modulaires permettant une libération contrôlée de substances nutritives et/ou physiologiquement actives pour animaux monogastriques, comprenant un noyau avec une phase lipidique avec des substances actives liposolubles et une phase aqueuse avec des composants actifs hydrosolubles, ladite phase lipidique étant dispersée dans ladite phase aqueuse, et un enrobage du noyau, comportant les étapes suivantes :

(a) préparer une première émulsion huile dans eau stabilisée par des nanoparticules ou des microparticules pour obtenir lesdites particules lipidiques ;

(b) préparer une phase aqueuse comportant les substances actives hydrosolubles, et les réactifs de gélification, ajouter dans cette phase aqueuse la première émulsion huile dans eau et homogénéiser l'ensemble pour obtenir une phase aqueuse gélifiable comportant une phase lipidique stabilisée et dispersée ;

(c) injecter ladite phase aqueuse en cours de gélification dans une phase huileuse et cisailer fortement l'ensemble pour obtenir une deuxième émulsion des particules aqueuses qui finiront de réticuler et de se solidifier dans l'huile ;

(d) séparer les particules aqueuses gélifiées ; et

(e) former l'enrobage desdits noyaux par additions successives de solutions de bio-

polymères cationiques et anioniques.

[0009] La gélification stabilisée en milieu aqueux de la phase ou matrice aqueuse dans laquelle se trouvent les particules lipidiques permet de conserver dans cette matrice les substances actives hydrosolubles utiles pour la croissance et d'être plus robustes face aux risques sanitaires de l'élevage pour les animaux cibles, par exemple de poissons à l'état larvaire.

[0010] Ce procédé de fabrication respecte l'intégrité de l'ensemble des nutriments et substances actives de l'aliment ou du complément alimentaire.

### **Description des Figures**

[0011] L'invention est décrite ci-après à l'aide des figures 1 à 9, données uniquement à titre d'illustration :

- [Fig. 1] présente schématiquement en coupe et sans respect des dimensions respectives un produit selon l'un des objets de l'invention ;
- [Fig. 2] présente schématiquement un mode de réalisation d'un enrobage du noyau du produit de la figure 1 ;
- [Fig. 3] présente un schéma d'un procédé de fabrication du produit de la figure 1 ;
- [Fig. 4] présente l'analyse de la dispersion de particules lipidiques stabilisées avec de la chitine ;
- [Fig. 5] présente un cliché en microscopie optique de particules lipidiques avant dispersion dans une phase aqueuse gélifiée ;
- [Fig. 6] présente des courbes de suivi du comportement rhéologique d'une phase aqueuse gélifiée ;
- [Fig. 7] présente la distribution de taille des noyaux du produit de la figure 1 ;
- [Fig. 8] présente le suivi conductimétrique des ajouts dosés de biopolymères chargés dans l'eau ; et
- [Fig. 9] présente l'évolution de la conductivité de particules réticulées, dispersées dans l'eau, en fonction d'ajouts dosés de biopolymères chargés.

### **Description détaillée de l'invention**

[0012] La [fig.1] présente schématiquement et en coupe sans aucun respect des dimensions respectives de chaque phase un produit selon l'un des objets de l'invention.

[0013] Ce produit 10 comprend un noyau 12 et un enrobage 14 du noyau. Le noyau 12 comprend une phase lipidique sous forme de particules sphériques stabilisées 16 dispersées dans une matrice aqueuse 18.

[0014] Un premier élément de ce produit 10 est la présence de particules lipidiques 16 dispersées dans la phase ou matrice aqueuse 18.

[0015] Selon des modes de réalisation préférentiels, les particules lipidiques sont de forme

sensiblement sphérique et de diamètre compris entre 1 et 10  $\mu\text{m}$ .

- [0016] Les particules lipidiques peuvent avantageusement comporter des vitamines et des antioxydants.
- [0017] Les particules lipidiques comprennent une ou plusieurs huiles végétales ou animales choisies de préférence parmi les huiles ayant une teneur élevée en oméga 6 et oméga 3. De préférence, ces particules lipidiques comportent une forte teneur en oméga 6 et oméga 3, en particulier de types DHA et EPA. La teneur en oméga 3 est de préférence supérieure à 15 % en poids par rapport au poids de la phase lipidique.
- [0018] Un deuxième élément du produit 10 est de comporter une phase aqueuse contenant des substances actives hydrosolubles.
- [0019] On utilisera indifféremment les termes « phase aqueuse » et « matrice aqueuse ».
- [0020] Avantageusement, la matrice aqueuse a une forme sensiblement sphérique et a un diamètre inférieur à 1 mm et de préférence compris entre 20 et 400  $\mu\text{m}$ .
- [0021] La réticulation de la phase aqueuse permet de limiter la fuite des nutriments et substances actives à l'extérieur lorsqu'elle est plongée dans un milieu aqueux.
- [0022] Selon un mode de réalisation préférentiel, la phase aqueuse comporte un polysaccharide fonctionnalisé présentant des charges négatives ou positives, avec une teneur comprise entre 1 et 4 % en poids par rapport au poids de ladite phase aqueuse.
- [0023] Avantageusement, la phase aqueuse est gélifiée (réticulée) par réaction du polysaccharide chargé avec des réactifs tels un sel de calcium en présence de pyrophosphate ou deltagluconolactone, par libération de protons acides par hydrolyse aqueuse.
- [0024] De préférence, le sel de calcium est choisi dans le groupe des carbonate, sulfate et stéarate de calcium.
- [0025] Avantageusement, la phase aqueuse comporte des agents de surface pour stabiliser l'émulsion huile dans eau.
- [0026] Selon un mode de réalisation préférentiel, ces agents de surface sont des micro-particules ou des nanoparticules dont au moins l'une des dimensions est inférieure à 50  $\mu\text{m}$ , que l'on retrouvera principalement en surface. En effet, ces particules jouent le rôle d'agents de surface stabilisateurs dans les émulsions dites de Pickering.
- [0027] Ces agents de surface peuvent avantageusement être des microfibrilles ou des nanofibrilles de cellulose ou de chitine avec une teneur en poids comprise entre 0,1 et 2% en poids, et préférentiellement entre 0,3 et 0,9 % en poids par rapport au poids de la phase aqueuse.
- [0028] De préférence, les microfibrilles ou les nanofibrilles ont un facteur de forme supérieur à 10.
- [0029] De préférence aussi, les microfibrilles ont une longueur comprise entre 1 et 50 micromètres et un diamètre compris entre 100 nanomètres et 1 micromètre. À titre

d'exemple les microfibrilles de chitine ont une longueur de l'ordre de 20  $\mu\text{m}$  et un diamètre de 100 nanomètres à 1  $\mu\text{m}$ .

- [0030] Des nanofibrilles peuvent aussi être utilisées, à titre d'exemple les nanofibrilles de chitine utilisées dans l'exemple présentent un facteur de forme de 10 à 40, un diamètre de l'ordre de 10 nanomètres et une longueur de 50 à 300 nanomètres.
- [0031] Selon un mode de réalisation préférentiel, l'émulsion des particules lipidiques dispersées dans la phase aqueuse comporte des protéines spécifiques destinées à modifier les propriétés des interfaces entre les particules lipidiques et la phase aqueuse. Ces propriétés peuvent être la perméabilité, les charges électrostatiques de surface, tension de surface, fonctions chimiques, rugosité...
- [0032] La masse moléculaire et le p*K*<sub>i</sub> de ces protéines peuvent être des critères de choix. A titre d'exemple, on peut utiliser des protéines BSA (Bovine Serum Albumine) dont la masse moléculaire est de l'ordre de 66 kDa et le p*K*<sub>i</sub> de 5,2 ; on peut aussi utiliser des protéines lysozyme de masse moléculaire de l'ordre de 14 kDa et de p*K*<sub>i</sub> égal à 11,35. Ces protéines sont ajoutées à la phase aqueuse après l'établissement de l'émulsion de Pickering.
- [0033] Selon un mode de réalisation préférentiel, la phase aqueuse gélifiée comporte une charge minérale.
- [0034] Cette charge minérale peut être choisie dans le groupe des phyllosilicates, et préférentiellement le phyllosilicate est une smectite.
- [0035] La charge minérale peut avoir une teneur dans la phase aqueuse comprise entre 0,5 et 35 % en poids et de préférence inférieure à 15 % en poids, par rapport au poids total de la phase aqueuse.
- [0036] La présence de cette charge minérale dans la matrice aqueuse a plusieurs avantages importants. Tout d'abord, la charge permet de maîtriser la flottabilité des objets lorsqu'ils sont utilisés en aquaculture. Elle renforce aussi la résistance des objets à l'action de l'oxygène en réduisant fortement sa cinétique de diffusion dans le noyau des objets et fait office de barrière physique pour limiter la fuite des petites molécules des nutriments et substances actives. Enfin, la très forte surface développée des feuillets de smectite permet de microstructurer la matrice aqueuse à l'échelle nanométrique ce qui permet de compartimenter et de jouer sur la cinétique de digestibilité de la matrice aqueuse par les interactions entre les feuillets chargés positivement sur les côtés et négativement en surface avec l'alginate.
- [0037] De préférence, la teneur de la phase lipidique dispersée dans la matrice aqueuse est comprise entre 5 et 50 % en volume, et de préférence comprise entre 10 et 30 % en volume, par rapport au volume total du noyau.
- [0038] En-dessous de 5 % en volume, le volume de la phase lipidique n'est plus suffisant pour introduire de façon aisée les substances actives liposolubles et avoir une bonne

homogénéité de composition des noyaux des objets.

- [0039] Au-delà de 50 %, il devient beaucoup plus difficile de conserver une émulsion d'huile dispersée dans la phase aqueuse (risque d'inversion de phase).
- [0040] La phase aqueuse gélifiée peut comporter des substances actives hydrophiles telles que des protéines, des acides aminés, des vitamines, des prébiotiques, des probiotiques, des anti-oxydants, et leurs combinaisons.
- [0041] Avantagement, la phase aqueuse comporte en outre un agent osmotique.
- [0042] Cet agent osmotique peut être choisi dans le groupe des sucres, des sels, des polymères hydrosolubles de préférence de masse moléculaire inférieure à 150 kg/mole et de leurs combinaisons.
- [0043] Un choix préférentiel d'agent osmotique peut être du sorbitol avec une teneur inférieure à 5 % en poids par rapport au poids de la solution aqueuse pour ne pas rendre indigeste le produit final. Une teneur entre 0,8 et 1,5 % en poids de sorbitol est optimale. On peut aussi utiliser avantagement du sel de Guérande qui permet aussi d'apporter des sels minéraux utiles.
- [0044] Le troisième élément de ce produit 10 est de comporter un enrobage 14 du noyau 12.
- [0045] Avantagement, le noyau 12 comporte en surface des charges libres, l'enrobage du noyau comporte n couches de matériaux biocompatibles avec un système digestif, en particulier de biopolymères, présentant un empilement alterné de charges électrostatiques positives et négatives qui forment des coacervats structurés en empilement de couches, et n est au moins égal à 1.
- [0046] Ce système d'enrobage a l'avantage de faciliter la modulation de l'épaisseur de la couche d'enrobage et le large choix de biopolymères permet de moduler le maillage de biopolymères à la surface, qui sera ensuite rigidifié par des réticulations plus ou moins fortes de ce maillage.
- [0047] De préférence, n est inférieur ou égal à 15 et de préférence compris entre 2 et 10. n est un nombre entier.
- [0048] Ce nombre de couches variable est adapté pour obtenir un bon compromis entre qualité de l'encapsulation et relargage contrôlé dans le tube digestif tout en permettant une mise en œuvre aisée.
- [0049] La couche extérieure de cet enrobage est de préférence constituée d'un polymère chargé positivement car cela a des propriétés antibactériennes et ainsi on améliore la conservation de l'aliment ou du complément alimentaire.
- [0050] Avantagement, les matériaux biocompatibles avec un système digestif sont des biopolymères chargés.
- [0051] Ces biopolymères sont de préférence choisis dans le groupe des polysaccharides chargés positivement, tels que polypeptides, chitosan, dérivés de la chitine, gomme de guar fonctionnalisée, et des polysaccharides chargés négativement tels que poly-

peptides, pectine, gomme arabique, xanthane, alginates, carraghénanes, dérivés cellulose, et leurs combinaisons mais peuvent également combiner les charges positives et négatives tels que dans l'acide hyaluronique.

- [0052] Selon un mode de réalisation préférentiel, l'enrobage comporte des agents de réticulation par complexation métallique ou pontage chimique choisis dans le groupe des métaux de transition chargés et des anions multichargés tels que les polyphosphates incluant le trisodium tetraphosphate (TSTP)  $\text{Na}_3\text{P}_4\text{O}_{10}$ .
- [0053] Avantagement, le noyau comporte un polymère chargé, ou des protéines avec des charges de surface ou des tensioactifs cationiques, anioniques ou zwitterioniques.
- [0054] On peut aussi ajouter spécifiquement des biopolymères chargés au noyau pour générer ces charges positives de surface. Ils seront choisis parmi des biopolymères anioniques, ou cationiques cités ci-dessus, mais également parmi les biopolymères combinant les charges positives et négatives tel que dans l'acide hyaluronique. Cela permet de moduler les charges résiduelles ou libres par l'ajustement des conditions de pH du milieu ou par l'équilibre stœchiométrique des systèmes de complexation dans la phase aqueuse gélifiée.
- [0055] L'enrobage peut aussi comporter au moins une couche de matériaux de renfort.
- [0056] Ces matériaux de renfort peuvent être choisis dans le groupe des argiles, des silices et des microfibrilles minérales ou organiques chargées.
- [0057] Ces matériaux de renfort présentent une dominante de charges électrostatiques négatives à leurs surfaces et sont ainsi attirés par les charges positives de surface d'un biopolymère cationique. On peut ainsi mettre en place une couche de matériaux de renfort entre deux couches de biopolymères cationiques.
- [0058] Le principe d'intégrer des matériaux de renfort présentant des charges électrostatiques négatives à leur surface reste possible, ils seront positionnés entre deux couches de biopolymères anioniques.
- [0059] Cet enrobage 14 est donc constitué de couches de biopolymères, avantagement de polysaccharides, et éventuellement de matériaux de renfort, chargés alternativement plus et moins. Dans l'estomac de l'animal, le pH est acide et c'est le maillage des biopolymères chargés positivement qui est le plus résistant à ce pH acide et qui assure l'intégrité de l'enrobage.
- [0060] Les couches chargées négativement de l'enrobage sont bloquées par des cations tels  $\text{Ca}^{++}$ . Ces cations sont dissous en milieu acide, donc lorsque l'on arrive en milieu basique (les intestins) on a une véritable libération de l'ensemble des couches de l'enrobage. Dès qu'il y a une brèche dans l'enrobage les enzymes de la bile vont pouvoir pénétrer jusqu'au noyau et entraîner la libération de la phase aqueuse ainsi que de ses nutriments et de ses substances actives, conduisant très rapidement aussi à la libération des particules lipidiques de la phase aqueuse ainsi que de leurs nutriments et

substances actives. Cet enrobage assure donc la libération rapide de tous les nutriments et substances actives dans la zone des intestins des animaux monogastriques là où leur absorption sera la plus efficace possible.

- [0061] Ce produit présente un fort potentiel dans la substitution efficace des proies vivantes dans les écloséries d'espèces marines de poissons, ainsi que pour les nurseries de crevettes. Il présente également un intérêt fort pour la supplémentation des eaux de breuvages des exploitations de monogastriques tels que les élevages aviaires.
- [0062] La [fig.2] illustre la formation de l'enrobage des noyaux par ajouts successifs de biopolymères, avantageusement de polysaccharides, chargés positivement et négativement.
- [0063] À gauche de la figure, on voit un noyau 12 du premier produit 10. Ce noyau comprend des charges libres de surface, de préférence positives.
- [0064] Ce noyau est dispersé dans une solution aqueuse, à laquelle on va ajouter une solution de biopolymères chargés négativement 52, par exemple des polysaccharides tels que les alginates, les xanthanes, les carboxyméthyl celluloses, etc.
- [0065] Par interactions électrostatiques, le biopolymère chargé négativement va recouvrir la surface du noyau en formant un coacervat, avec un excédent de charges négatives servant de base pour l'étape suivante.
- [0066] On introduit ensuite dans la dispersion avec le noyau chargé maintenant négativement en surface, une solution de biopolymère, avantageusement de polysaccharide, chargé positivement 54. Celui-ci va alors recouvrir la couche précédemment disposée.
- [0067] On renouvelle l'opération en alternant les solutions de biopolymères chargés plus et moins jusqu'à obtenir un enrobage 14 comportant le nombre n de couches désiré. Usuellement n est compris entre 2 et 10.
- [0068] La [fig.3] présente les différentes étapes de fabrication du produit 10.
- [0069] Les noyaux du produit 10 sont préparés à partir d'une double émulsion huile dans eau dans huile. La première émulsion huile dans eau est stabilisée par des agents de surface tels des microparticules ou des nanoparticules puis optionnellement les interfaces entre les particules lipidiques et la matrice aqueuse sont modifiées par l'incorporation dans la phase aqueuse de protéines spécifiques. L'obtention des noyaux est alors obtenue par réalisation de l'émulsion double et stabilisée par réticulation de la phase aqueuse gélifiée. Les particules sont récupérées par séparation entre la phase huile et de l'eau de lavage par exemple par centrifugation. On réalise ensuite un enrobage. Les agents de surface de stabilisation de la première émulsion sont avantageusement des microfibrilles de chitine ou de cellulose.
- [0070] Un exemple de réalisation est maintenant décrit.
- [0071] À l'étape (a), on prépare dans un flacon une phase aqueuse contenant une concentration de nanofibrilles de cellulose ou de chitine comprise entre 0,1 % et 0,6 %

en poids par rapport au poids de la phase aqueuse. On ajoute dans ce flacon le volume nécessaire d'un mélange d'huile adapté pour avoir une composition avec des taux d'acide docosahexaénoïque (DHA) et d'acide eicosapentaénoïque (EPA) appropriés pour la cible choisie. On a 30 % en volume d'huile et 70 % en volume d'eau.

[0072] Les nanofibres de chitine utilisées ont un facteur de forme de 10 à 40, un diamètre de l'ordre de 10 nanomètres et une longueur de 50 à 300 nanomètres.

[0073] On homogénéise à l'aide d'un système rotor-stator type Silverson L5M-A, permettant d'obtenir un fort cisaillement à 10 000 rpm (tours par minute), pendant 10 min. On laisse reposer 20 min, puis on homogénéise à nouveau pendant 10 min à la même vitesse.

[0074] Les émulsions ont été caractérisées au granulomètre Malvern Mastersizer 3000 avec une dispersion en voie liquide par l'hydro EV, avec le logiciel de détermination de la taille de l'appareil (équation Fraunhofer).

[0075] La [fig.4] présente les résultats de l'analyse de la taille des particules lipidiques obtenues avec stabilisation avec des microfibrilles de chitine. La courbe C1 correspond à une concentration de chitine de 0,1 % en poids par rapport au poids de la phase aqueuse, la courbe C2 à 0,2 % en poids, la courbe C3 à 0,3 % en poids et la courbe C4 à 0,6 % en poids.

[0076] Les particules les plus monodisperses sont obtenues à partir de 0,3 % en poids de chitine en solution, pour un pic de tailles compris entre 5 et 6  $\mu\text{m}$ .

[0077] Les tailles moyennes des particules lipidiques obtenues par stabilisation avec de la cellulose sont plus petites, entre 2 et 3 microns, et les émulsions sont stables dès 0,1% en poids d'agent stabilisant.

[0078] À l'étape (a') optionnelle, on module la perméabilité des particules lipidiques en incorporant dans la phase aqueuse des protéines spécifiques. En travaillant à pH 7, on utilise des protéines de lysozyme pour des émulsions stabilisées avec des microfibrilles de cellulose et des protéines BSA (Bovine Serum Albumine) pour des émulsions stabilisées avec des microfibrilles de chitine. Cela permet de favoriser les interactions électrostatiques avec les charges négatives de surface de la cellulose, ou positives de la chitine.

[0079] La [fig.5] montre un cliché obtenu au microscope optique, aucune agrégation n'est observée.

[0080] Ces particules peuvent être utilisées pour la fabrication de l'aliment.

[0081] À l'étape (b), on prépare une phase aqueuse gélifiée (réticulée) comme suit :

[0082] Dans un bécher, on disperse 20 % en poids par rapport au poids de la phase aqueuse d'un mélange de protéines correspondant à la cible d'apport en acides aminés dans de l'eau ; on ajoute 2 % en poids d'alginate de sodium ; on ajoute 1 % en poids d'agent osmotique par exemple du sorbitol.

- [0083] On mélange avec un fouet du type d'un robot Kenwood jusqu'à homogénéisation complète de la solution.
- [0084] On ajoute l'émulsion préparée à l'étape (a) de façon à apporter 10 % en poids de lipides par rapport au poids de la phase aqueuse ; on ajoute les éléments nutritifs complémentaires (de 2 à 15 % en poids par rapport à la phase aqueuse) ; on homogénéise au fouet pendant 5 à 10 min.
- [0085] On prépare séparément une dispersion à hauteur de 30 % en poids d'argile (montmorillonite ou bentonite) dans une phase aqueuse contenant 0,5 % en poids de gomme de guar. On ajoute à la phase aqueuse du bécher l'équivalent de 2 % en poids par rapport au poids de la phase aqueuse du bécher de la dispersion d'argile.
- [0086] On mélange avec le fouet l'ensemble. La solution peut être travaillée pendant 5 à 10 minutes.
- [0087] On ajoute ensuite simultanément 0,5 % en poids de pyrophosphate et 2 % de sulfate de calcium, puis on mélange avec le fouet l'ensemble pendant 1 à 2 minutes.
- [0088] La cinétique de solidification de l'aliment a été caractérisée au Rhéomètre ARES-G2 de TA-instrument, avec le mobile cône/plan de 40 mm<sup>2</sup>. Un cisaillement rotatif de 5° a été appliqué à une fréquence de 1 Hz, et l'évolution de la force au cours du temps a été mesurée.
- [0089] La [fig.6] présente des courbes de suivi du comportement rhéologique de la phase aqueuse gélifiée dans le cas d'une phase obtenue avec 2 % en poids d'alginate et 15 % en poids de protéines par rapport au poids total de la phase aqueuse. Cette figure donne l'évolution en fonction du temps des modules  $G'$  et  $G''$  mesurés.
- [0090] On observe aux temps d'observation courts une déstructuration du gel poly-électrolyte/protéines, avec une diminution de la force de cisaillement  $G'$ , marquant plusieurs paliers. Puis une reprise de la force au-delà de 3800 secondes traduisant l'émergence d'un domaine de réticulation percolant entre les deux plaques de cisaillement. Cette réticulation semble saturer à 8300 secondes, puis il y a décrochement probablement lié à la désolidarisation de l'échantillon solidifié avec la paroi du cône/plan.
- [0091] On en déduit que la mixture peut être travaillée pendant environ une heure sans risquer de détruire le mécanisme de gélification, et avec deux heures de repos consécutifs on atteint le niveau de rigidité maximum.
- [0092] À l'étape (c), on injecte la phase aqueuse gélifiée obtenue à l'étape (c) dans une phase huileuse, on cisaille fortement l'ensemble pour obtenir une deuxième émulsion des particules aqueuses gélifiées dans l'huile :
- [0093] Dans un bécher, on verse un volume de phase huileuse, préférentiellement de l'huile de tournesol, correspondant à trois fois le volume de la phase aqueuse gélifiée obtenue à l'étape (b) ; on ajoute la phase aqueuse gélifiée et on mélange la solution dans un

mélangeur à fort cisaillement rotor-stator type Mélangeur Silverson, L5M-A pendant 5 min à 2 800 rpm (tours par minute).

- [0094] On laisse reposer 30 minutes ; on cisaille de nouveau au mélangeur à fort cisaillement pendant 5 minutes et on laisse reposer 120 minutes.
- [0095] On peut aussi optionnellement obtenir plus rapidement la fin des réactions de réticulation en augmentant la température des particules aqueuses.
- [0096] à l'étape (d), on obtient les particules aqueuses réticulées, les noyaux des produits 10, que l'on récupère en transférant les particules dans de l'eau de lavage et par séparation de la phase huileuse par exemple par centrifugation :
- [0097] Dans un grand récipient/réacteur, on verse le mélange précédent, on ajoute un volume d'eau correspondant à deux fois le volume de la phase huileuse. L'eau comporte 1 % en poids d'agent osmotique préférentiellement du sorbitol.
- [0098] On homogénéise la solution biphasique puis on centrifuge à 1000 g pendant deux minutes. Les noyaux ainsi centrifugés migrent dans la phase aqueuse.
- [0099] On élimine le surnageant correspondant à l'huile, et le surnageant d'eau de lavage, en conservant les noyaux.
- [0100] On renouvelle cette purification des particules à deux reprises avec de l'eau supplémentée à 1% en sorbitol.
- [0101] A chaque fois la phase huileuse et le surnageant aqueux sont éliminés.
- [0102] Enfin, on ajoute les particules décantées dans une phase aqueuse dont le volume est double de celui des particules décantées. L'eau contient 1% de sorbitol et 0.05% de Chitosan (agent de stabilisation anti bactérien).
- [0103] Les noyaux peuvent être stockées à +4°C.
- [0104] Les particules sont caractérisées au granulomètre Malvern Mastersizer 3000 avec une dispersion en voie liquide par l'hydro EV, avec le logiciel de détermination de la taille de l'appareil (équation Fraunhofer). La [fig.7] présente les résultats obtenus.
- [0105] La taille moyenne des particules de phase aqueuse, les noyaux, obtenues avec la vitesse de rotation de 2000 rpm est de 480 µm. La taille moyenne peut être réduite en augmentant le taux de cisaillement de la solution, en diminuant la viscosité de la solution d'alginate (phase dispersée) ou en augmentant la viscosité de la phase continue (huile).
- [0106] Les particules ainsi obtenues peuvent être stockés au frais (4°C), ou utilisées pour l'étape d'enrobage par dépôt de couche de biopolymère couche par couche, en anglais « Layer by Layer ».
- [0107] À l'étape (e), on forme l'enrobage des noyaux par dispersion dans un bain aqueux dans lequel on apportera successivement des solutions de matériaux biocompatibles cationiques et anioniques :
- [0108] Le mode opératoire est décrit pour 100 g de particules aqueuses dispersées dans 300

g d'eau supplémentée de 1 % de sorbitol.

[0109] On utilise un mobile d'agitation favorisant une bonne homogénéisation, sans induire un cisaillement excessif de la solution (mobile hélices doubles).

[0110] On prépare :

- 2000 ml d'une première solution aqueuse de chitosan à 0,1 % en poids par rapport au poids de la solution aqueuse (avec 0.05% d'acide acétique) ;
- 2000 ml d'une seconde solution aqueuse d'alginate de sodium à 0,1 % en poids ;
- 200 ml d'une troisième solution aqueuse de chlorure de calcium à 2 % en poids ; et
- 200 ml d'une quatrième solution aqueuse de trisodium tetraphosphate (TSTP) à 0,5% en poids.

[0111] On commence les ajouts par la solution d'alginate de sodium à 0,1 % en poids ; on agite pendant 1 à 2 min entre chaque ajout. On ajoute ensuite la solution de chitosan.

[0112] La marche suivie et les proportions de chaque ajout sont alors les suivantes (tous les % sont des % en poids) :

- + 20 ml de solution d'alginate de sodium à 0,1 % ;
- + 20 ml de solution de chitosan à 0,1 % ;
- + 60 ml de solution d'alginate de sodium à 0,1 % ;
- + 20 ml de solution de trisodium tetraphosphate (TTP) à 5 g/l ;
- + 10 ml de solution de chitosan à 0,1 % ;
- + 10 ml de solution de chlorure de calcium à 2 % ;
- + 4,25 g de montmorillonite ;
- + 100 ml de solution de chitosan à 0,1 % ;
- + 80 ml de solution d'alginate de sodium à 0,1 % ;
- + 20 ml de solution de chitosan à 0,1 % ; et
- + 20 ml de solution de chlorure de calcium à 20 %.

[0113] On agite pendant 15 min à 370 rpm. Ce mode opératoire permet d'obtenir un enrobage à sept couches dont la première est une couche d'alginate de sodium anionique et la dernière de chitosan cationique. Au milieu de l'enrobage, il y a une couche de feuillets de smectite (montmorillonite). Ces opérations ont pu être répétées jusqu'à sept fois au laboratoire.

[0114] Le suivi conductimétrique de la conductance des solutions permet de suivre le dépôt des biopolymères chargés.

[0115] Comme référence, on mesure l'évolution de la conductivité d'une solution d'eau pure, à laquelle on effectue des ajouts dosés de solution de chitosan à 0,1% (courbe C1), puis de façon indépendante des ajouts dosés d'alginate de sodium à 0,1 % (courbe C2), et enfin la combinaison des deux (courbe C3). La [fig.8] montre les résultats

obtenus.

- [0116] On caractérise ainsi l'augmentation de la conductivité de la solution lors des ajouts de chitosan et d'alginate de sodium, avec une conductivité plus importante pour l'alginate. La combinaison des deux réactifs se traduit par une augmentation en dents de scie moins rapide de la conductivité comparée à celle des polymères anioniques et cationiques seuls, car les charges se neutralisent en grande partie, et le rayon de giration des coacervats devient plus grand (conductivité apparente moins élevée).
- [0117] La [fig.9] montre l'évolution de la conductivité d'une solution de particules aqueuses lors des ajouts dosés de biopolymères chargés. Cette figure montre que l'ajout de biopolymères anioniques et cationiques n'induit pas d'augmentation de la conductivité de la solution, au contraire, elle diminue. C'est la signature de la condensation des biopolymères anioniques et cationiques à la surface des particules, conduisant à la diminution de la conductivité globale de la solution. Compte tenu du fait que les grosses particules de lipides contribuent peu à la conductivité, et que les sels en solution (agent osmotique) peuvent être piégés dans l'interface au cours de la condensation, ils ne contribuent plus à la conductivité de la solution.
- [0118] Les aliments et les compléments alimentaires qui constituent certains des objets de l'invention sont donc des produits à architecture modulaire qui permettent d'encapsuler des nutriments et substances actives diverses et de les relarguer dans le système digestif des animaux cibles.
- [0119] La stabilisation grâce aux polymères de l'enrobage lui permet de résister au milieu acide de l'estomac tout en permettant une désagrégation rapide en milieu basique ultérieur ce qui assure un relargage très rapide et efficace de l'ensemble des nutriments et substances actives là où ils sont les plus efficaces.
- [0120] L'architecture modulaire du noyau permet d'incorporer dans la phase interne aqueuse de l'ordre de vingt substances actives hydrosolubles différentes ; dans la phase interne lipidique, on peut incorporer aussi un nombre important de substances actives liposolubles différentes.
- [0121] Le procédé de fabrication est respectueux de ces nutriments et substances actives.
- [0122] Les produits objets de l'invention sont ainsi avec leur architecture modulaire d'usage très souple et en faisant varier les conditions de fabrication, on peut faire varier les dimensions respectives des particules et des noyaux ainsi que la nature et la quantité des substances actives et des nutriments pour les adapter finement à tous les animaux cibles.

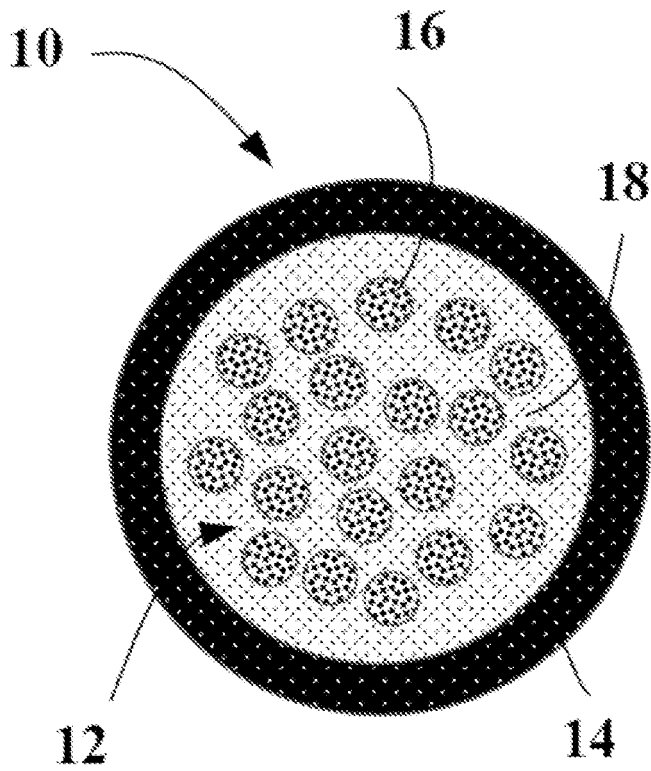
## Revendications

- [Revendication 1] Aliment ou complément alimentaire, sous forme d'objets à empilements modulaires permettant une libération contrôlée de substances nutritives et/ou physiologiquement actives pour animaux, comprenant un noyau avec une phase lipidique comportant des substances nutritives et/ou physiologiquement actives liposolubles, ladite phase lipidique étant sous forme de particules dispersées dans une matrice aqueuse gélifiée, **caractérisé en ce que** ladite phase aqueuse gélifiée est stable dans un milieu aqueux, **en ce que** ladite phase aqueuse gélifiée comporte des substances nutritives et/ou physiologiquement actives hydrosolubles, **en ce que** ladite phase aqueuse gélifiée comporte une charge minérale et/ou des agents de surface et **en ce qu'il** comporte un enrobage du noyau.
- [Revendication 2] Aliment ou complément alimentaire selon la revendication 1, dans lequel ladite phase aqueuse comporte un polysaccharide fonctionnalisé présentant des charges négatives ou positives, avec une teneur comprise entre 1 et 4 % en poids par rapport au poids de ladite phase aqueuse.
- [Revendication 3] Aliment ou complément alimentaire selon la revendication 2, dans lequel ladite phase aqueuse est gélifiée par réaction dudit polysaccharide chargé avec des réactifs tels un sel de calcium en présence de pyrophosphate ou deltagluconolactone, par libération de protons acides par hydrolyse aqueuse.
- [Revendication 4] Aliment ou complément alimentaire selon la revendication 3, dans lequel le sel de calcium est choisi dans le groupe des carbonate, sulfate et stéarate de calcium.
- [Revendication 5] Aliment ou complément alimentaire selon l'une des revendications 1 à 4, dans lequel la teneur de la phase lipidique dispersée dans la phase aqueuse est comprise entre 5 et 50 % en volume, et de préférence comprise entre 10 et 30 % en volume par rapport au volume de ladite phase aqueuse.
- [Revendication 6] Aliment ou complément alimentaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel ladite charge minérale est choisie dans le groupe des phyllosilicates et préférentiellement une smectite.
- [Revendication 7] Aliment ou complément alimentaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel lesdits agents de surface sont des microfibrilles ou des nanofibrilles de cellulose ou de chitine avec une teneur comprise entre 0,1 et 2 % en poids et préférentiellement entre 0,3 et 0,9% en poids par rapport au poids de ladite phase aqueuse.

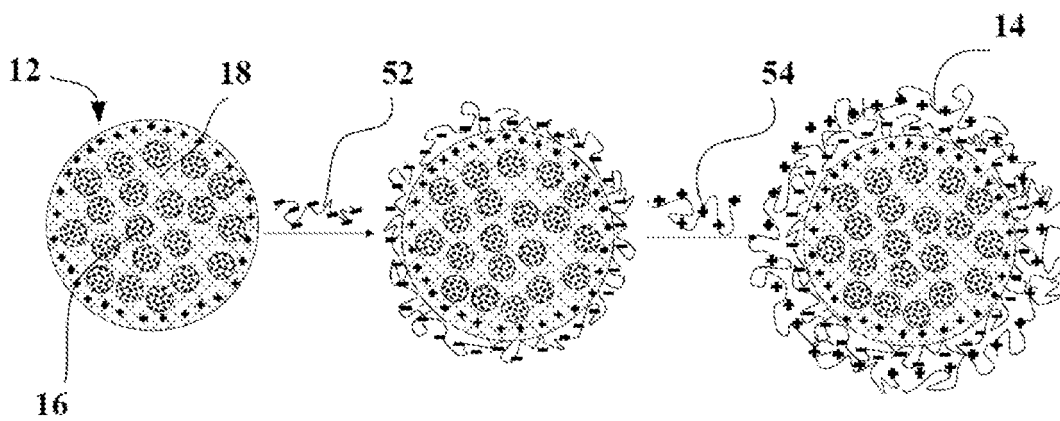
- [Revendication 8] Aliment ou complément alimentaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel ledit noyau comporte en surface des charges libres, dans lequel ledit enrobage dudit noyau comporte n couches de matériaux biocompatibles avec un système digestif chargés électrostatiquement alternativement positivement et négativement pour former des coacervats en empilement de couches, et dans lequel n est au moins égal à 1.
- [Revendication 9] Aliment ou complément alimentaire selon la revendication 8, dans lequel les matériaux biocompatibles avec un système digestif sont des biopolymères chargés.
- [Revendication 10] Aliment ou complément alimentaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel le noyau comporte un polymère chargé, ou des protéines avec des charges de surface ou des tensioactifs cationiques, anioniques ou zwitterioniques.
- [Revendication 11] Aliment ou complément alimentaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la taille dudit objet est inférieure à 1 mm et de préférence comprise entre 50 et 400 micromètres.
- [Revendication 12] Aliment ou complément alimentaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la taille desdites particules lipidiques est comprise entre 1 et 100 micromètres et de préférence comprise entre 1 et 10 micromètres.
- [Revendication 13] Procédé de préparation d'un aliment ou d'un complément alimentaire selon l'une quelconque des revendications précédentes, comportant les étapes suivantes :
- (a) préparer une première émulsion huile dans eau stabilisée par des nanoparticules ou des microparticules pour obtenir lesdites particules lipidiques ;
  - (b) préparer une phase aqueuse comportant les substances actives hydrosolubles, et les réactifs de gélification, ajouter dans cette phase aqueuse la première émulsion huile dans eau et homogénéiser l'ensemble pour obtenir une phase aqueuse gélifiable comportant une phase lipidique stabilisée et dispersée ;
  - (c) ajouter ladite phase aqueuse en cours de gélification dans une phase huileuse et cisailer fortement l'ensemble pour obtenir une deuxième émulsion des particules aqueuses qui finiront de réticuler et de se solidifier dans l'huile ;
  - (d) séparer les particules aqueuses gélifiées ; et
  - (e) former l'enrobage desdits noyaux par additions successives de

solutions de biopolymères cationiques et anioniques.

[Fig. 1]

**Fig. 1**

[Fig. 2]

**Fig. 2**

[Fig. 3]

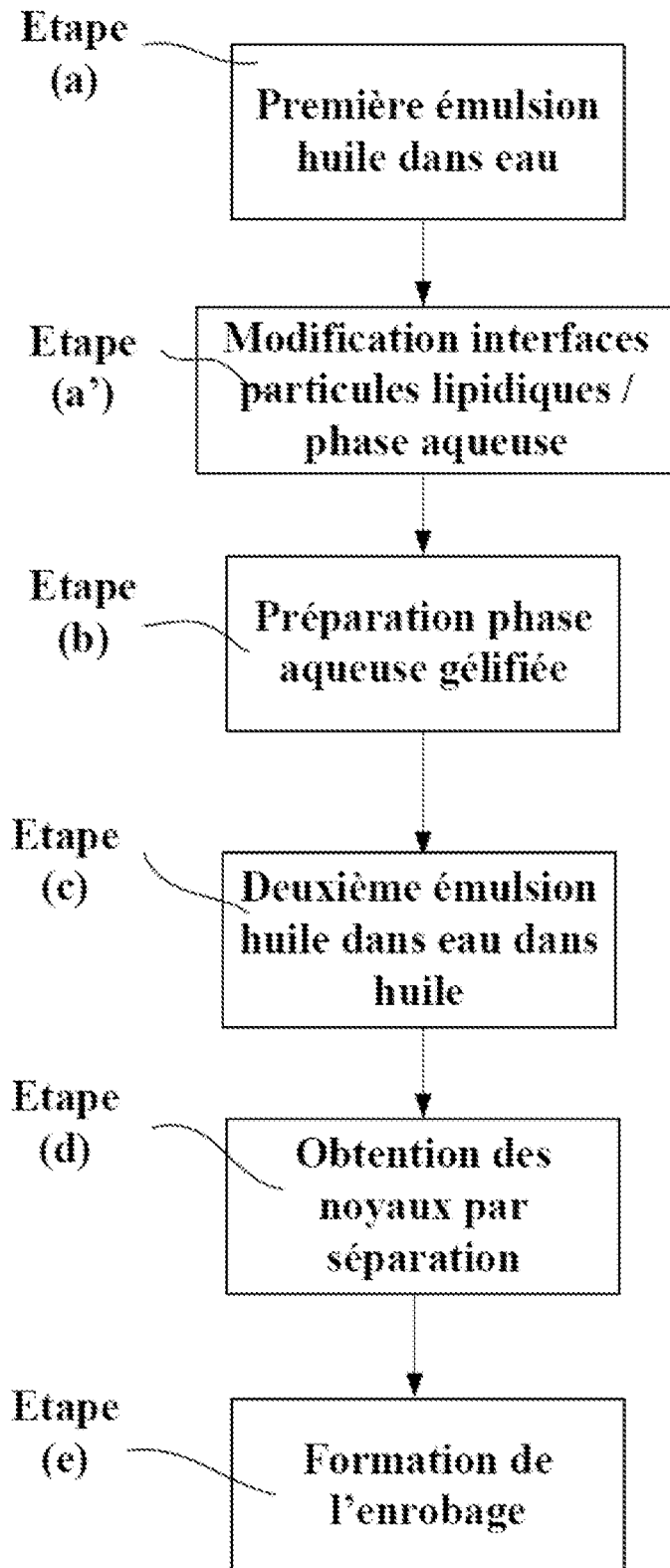


Fig. 3

[Fig. 4]

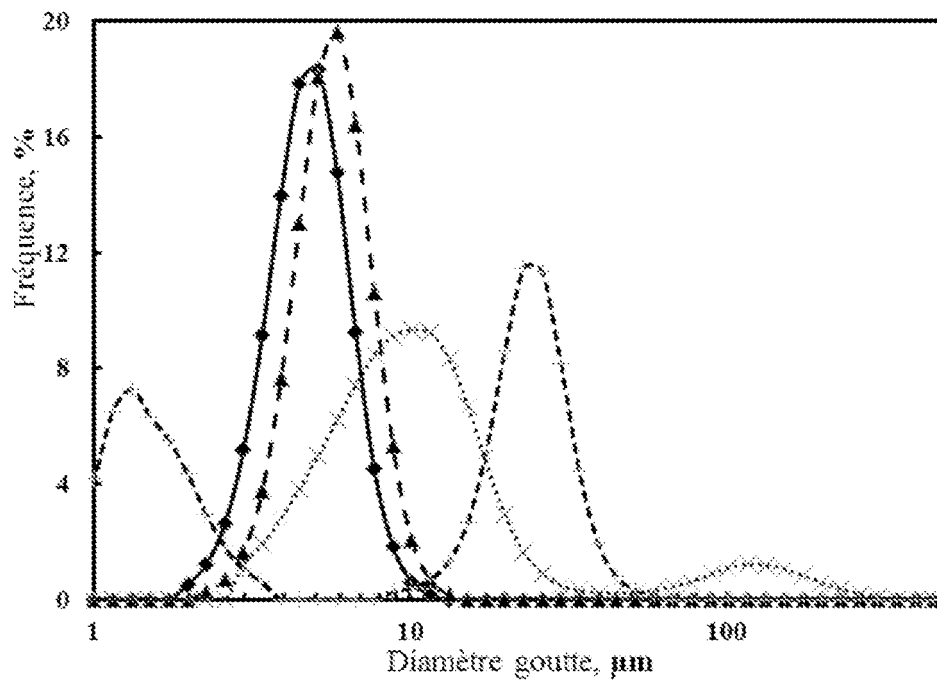


Fig. 4

[Fig. 5]

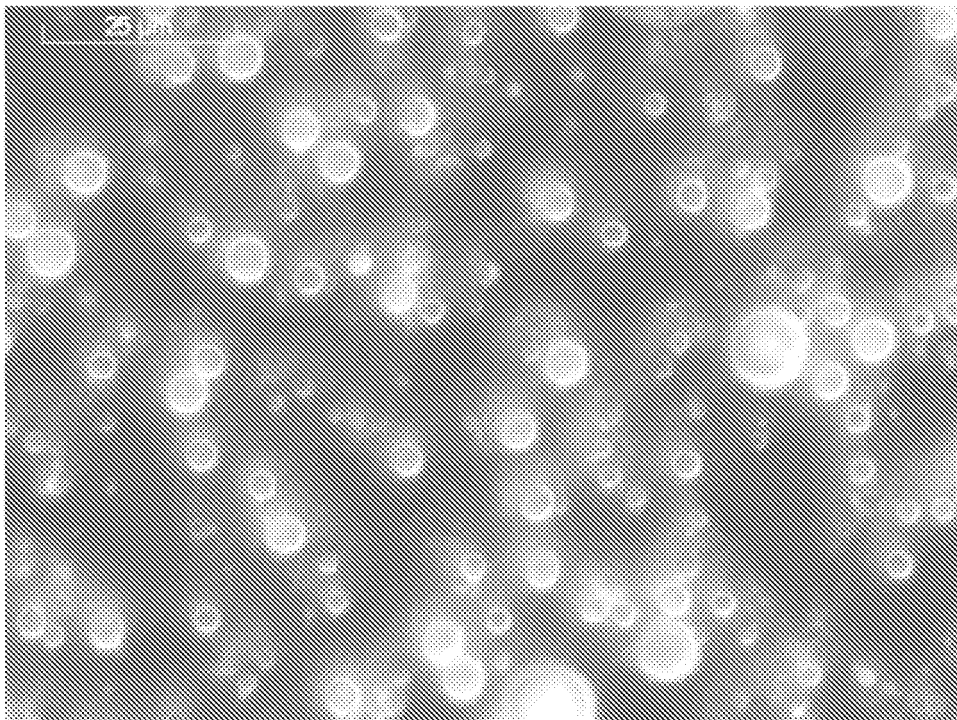


Fig. 5

[Fig. 6]

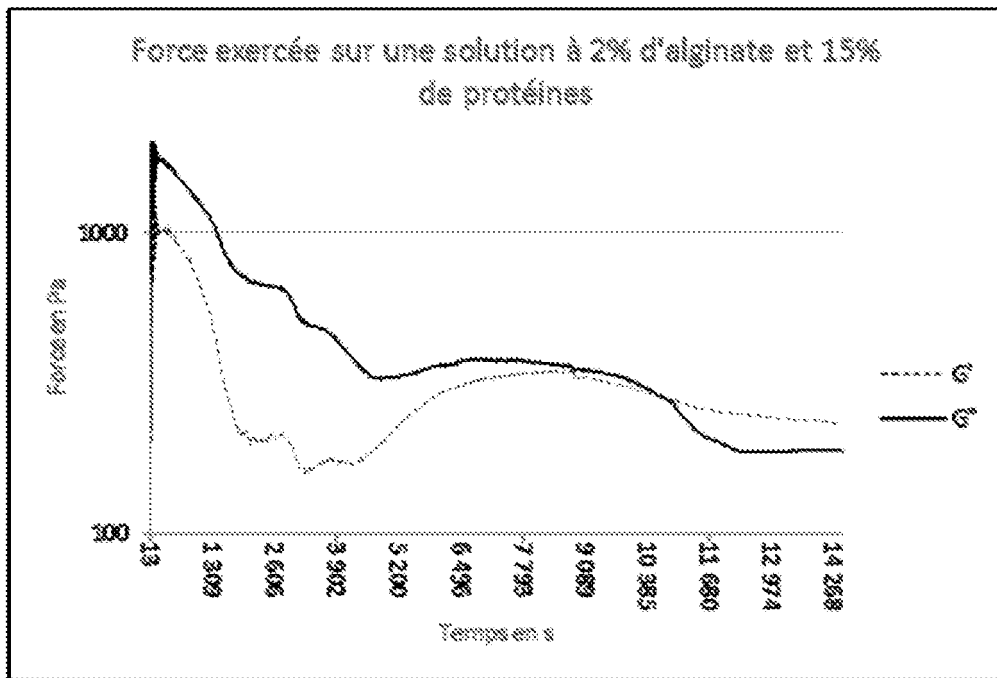


Fig. 6

[Fig. 7]

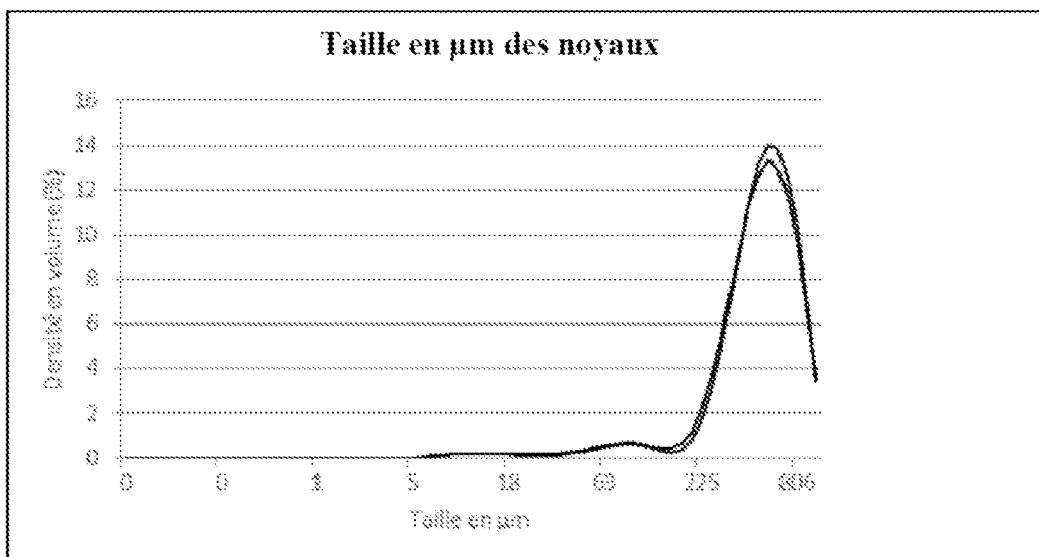


Fig. 7

[Fig. 8]

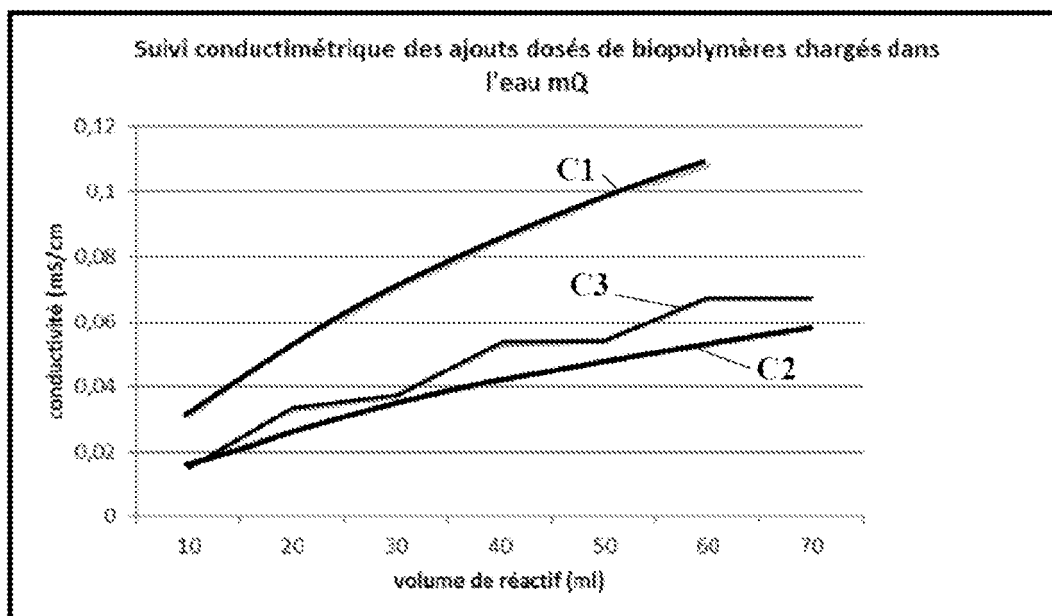


Fig. 8

[Fig. 9]

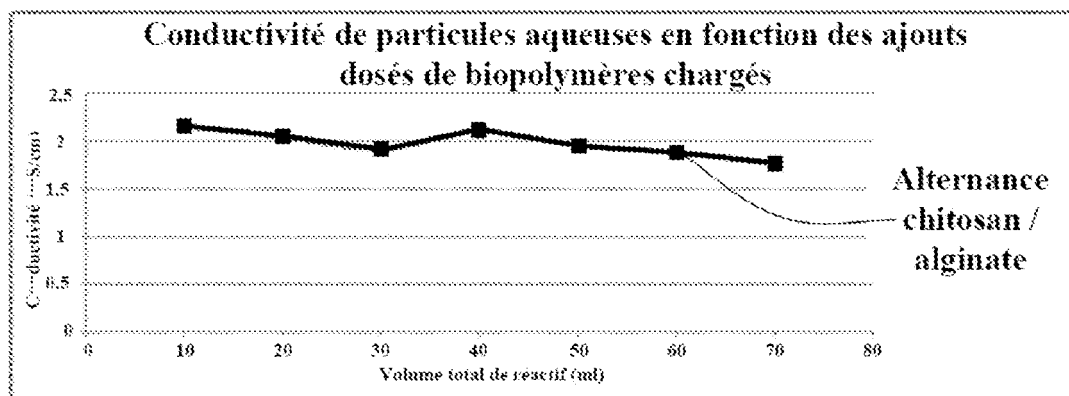


Fig. 9

# RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14, L.612-53 à 69 du code de la propriété intellectuelle

## OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

---

L'I.N.P.I. annexe à chaque brevet un "RAPPORT DE RECHERCHE" citant les éléments de l'état de la technique qui peuvent être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention, au sens des articles L. 611-11 (nouveau) et L. 611-14 (activité inventive) du code de la propriété intellectuelle. Ce rapport porte sur les revendications du brevet qui définissent l'objet de l'invention et délimitent l'étendue de la protection.

Après délivrance, l'I.N.P.I. peut, à la requête de toute personne intéressée, formuler un "AVIS DOCUMENTAIRE" sur la base des documents cités dans ce rapport de recherche et de tout autre document que le requérant souhaite voir prendre en considération.

## CONDITIONS D'ETABLISSEMENT DU PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

---

Le demandeur a présenté des observations en réponse au rapport de recherche préliminaire.

Le demandeur a maintenu les revendications.

Le demandeur a modifié les revendications.

Le demandeur a modifié la description pour en éliminer les éléments qui n'étaient plus en concordance avec les nouvelles revendications.

Les tiers ont présenté des observations après publication du rapport de recherche préliminaire.

Un rapport de recherche préliminaire complémentaire a été établi.

## DOCUMENTS CITES DANS LE PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

---

La répartition des documents entre les rubriques 1, 2 et 3 tient compte, le cas échéant, des revendications déposées en dernier lieu et/ou des observations présentées.

Les documents énumérés à la rubrique 1 ci-après sont susceptibles d'être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention.

Les documents énumérés à la rubrique 2 ci-après illustrent l'arrière-plan technologique général.

Les documents énumérés à la rubrique 3 ci-après ont été cités en cours de procédure, mais leur pertinence dépend de la validité des priorités revendiquées.

Aucun document n'a été cité en cours de procédure.

**1. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE SUSCEPTIBLES D'ETRE PRIS EN  
CONSIDERATION POUR APPRECIER LA BREVETABILITE DE L'INVENTION**

US 2018/325827 A1 (WOOSTER TIMOTHY JAMES  
[CH] ET AL) 15 novembre 2018 (2018-11-15)

US 2019/254302 A1 (ABBASPOURRAD ALIREZA  
[US] ET AL) 22 août 2019 (2019-08-22)

WO 2008/037578 A1 (UNILEVER PLC [GB];  
UNILEVER NV [NL] ET AL.)  
3 avril 2008 (2008-04-03)

US 2011/117180 A1 (YAN CUJE [CA] ET AL)  
19 mai 2011 (2011-05-19)

US 2011/052680 A1 (HENDRICKSON WILLIAM A  
[US] ET AL) 3 mars 2011 (2011-03-03)

US 2013/202740 A1 (GIVEN JR PETER S [US]  
ET AL) 8 août 2013 (2013-08-08)

EP 1 696 736 B1 (INVE TECHNOLOGIES N V  
[BE]) 18 février 2009 (2009-02-18)

**2. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN  
TECHNOLOGIQUE GENERAL**

NEANT

**3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND  
DE LA VALIDITE DES PRIORITES**

NEANT