

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 537 991

②① N° d'enregistrement national : **82 21302**

⑤① Int Cl³ : C 12 N 11/02; A 23 K 1/165.

①② **DEMANDE DE BREVET D'INVENTION**

A1

②② Date de dépôt : 20 décembre 1982.

③① Priorité

④③ Date de la mise à disposition du public de la
demande : BOP « Brevets » n° 25 du 22 juin 1984.

⑥① Références à d'autres documents nationaux appa-
rentés :

⑦① Demandeur(s) : *Société anonyme dite : SANDERS.* —
FR.

⑦② Inventeur(s) : Mohamed Bakri Assoumani.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : Armengaud Jeune, Casanova et Lepeu-
dry.

⑤④ Procédé pour stabiliser des enzymes liquides, enzymes liquides ainsi stabilisées et aliment renfermant de telles
enzymes notamment pour des animaux monogastriques.

⑤⑦ Procédé pour stabiliser des enzymes liquides et aliments
comportant de telles enzymes.

On pulvérise des enzymes liquides sur un support solide tel
que les sous-produits de la fermentation alcoolique du maïs,
brassé en continu.

Application à la préparation d'aliments pour monogastriques.

FR 2 537 991 - A1

La présente invention est relative à un procédé pour stabiliser des enzymes liquides et aux enzymes stabilisées ainsi obtenues. De plus, elle concerne des aliments renfermant de telles enzymes stabilisées pour nourrir notamment des animaux monogastriques.

Les enzymes sont, actuellement de plus en plus utilisées industriellement, en particulier dans les procédés biotechnologiques faisant appel à des fermentations. De ce fait, on assiste depuis quelques années à la production d'enzymes de plus en plus actives à coût de plus en plus intéressant : cela a notamment pour conséquence que la quantité mise en oeuvre dans un même procédé diminue, ce qui a pour corollaire un abaissement du coût de ce procédé.

En général, les enzymes sont commercialisées sous forme liquide ou de poudre, séchées ou coséchées avec différentes molécules de sucre afin d'augmenter leur stabilité thermique dans ce dernier cas. La plupart du temps, le séchage entraîne une perte d'activité de l'enzyme ce qui augmente par là-même le coût de l'activité enzymatique et par suite celui du procédé.

Sur le plan technologique, on utilise les enzymes principalement sous les deux formes suivantes : libres ou immobilisées selon différentes techniques. Dans le cas des enzymes immobilisées, on distingue habituellement les enzymes liées par adsorption c'est-à-dire liaison covalente telle que par exemple la glucose-isomérase produite et commercialisée par la société américaine CPC International Inc. et les enzymes incluses dans une capsule ou une matrice comme par exemple la glucose-isomérase produite et commercialisée par la société italienne Snam Progetti. Ainsi qu'on peut le remarquer, une enzyme peut être immobilisée des deux façons envisagées ci-dessus.

En règle générale, on réalise la fixation d'enzymes lorsque le substrat est soluble ou dispersible : celui-ci peut, de ce fait, entrer directement en contact avec l'enzyme puisqu'aucun problème de barrière physique n'existe.

Dans le domaine alimentaire, tant humain qu'animal, plusieurs publications font état de l'utilisation de différentes enzymes pour pallier une déficience physiologique : ainsi on supplémentera une ration d'orge destinée à la volaille par de l' α -amylase ou de la β -glucanase, ou une ration d'ensilage de grain pour ruminants notamment par des protéases, de l' α -amylase ou des cellulase. Mais les résultats ne sont pas toujours concluants, c'est-à-dire que les enzymes ajoutées n'ont aucune action bénéfique et parfois même auraient un rôle négatif.

La quantité nécessaire d'enzymes liquides biologiquement efficace, s'avère souvent très faible : généralement inférieure à 150 ml pour 100 kg d'aliment fini. Ceci constitue un obstacle technologique à l'emploi des enzymes liquides au niveau de la production de l'aliment. En outre, les conditions pour conserver des enzymes liquides sont relativement contraignantes puisque notamment elles doivent être stockées à la température de + 4°C.

Aussi un des buts de la présente invention est-il de fournir un procédé pour stabiliser des enzymes liquides qui permet de conserver celles-ci à la température ambiante.

Un autre but de l'invention est de fournir un procédé permettant d'obtenir une enzyme qui garde son activité pendant le stockage.

Un objet de l'invention est une enzyme liquide stabilisée qui ne présente pour ainsi dire pas de perte d'activité lors des différentes phases de fabrication de l'aliment en comportant et ce quel que soit le type de l'aliment (farine, granulés ou miettes).

Un autre objet de l'invention est un aliment contenant des enzymes stabilisées efficaces in vivo particulièrement destiné à l'alimentation des animaux monogastriques.

Ces buts et ces objets ainsi que d'autres qui apparaîtront par la suite sont atteints par le procédé, selon la présente invention, pour stabiliser des enzymes liquides

consistant en la pulvérisation d'une quantité d'enzymes sur un support solide brassé en continu.

De préférence la quantité d'enzymes est comprise entre 0,5 et 100 ml par kg de support solide.

5 Avantageusement, le support solide provient notamment de la fermentation alcoolique des grains de maïs ou de la production d'éthanol. Il est généralement désigné par le terme anglo-saxon de "corn distillers".

10 De préférence, on soumet au préalable le support solide à un traitement par des acides organiques.

Avantageusement, le support solide présente une granulométrie inférieure à 1 millimètre.

15 Ainsi qu'il l'a déjà été énoncé, la présente invention a également trait aux enzymes liquides stabilisées par un tel procédé ainsi qu'aux aliments en renfermant.

20 En pulvérisant une enzyme liquide sur un support solide provenant de la fermentation alcoolique des grains de maïs, celle-ci est adsorbée sur le support solide de telle sorte qu'elle peut être libérée en milieu aqueux pour hydro-
liser un substrat .

Les supports solides selon la présente invention sont déjà traités par des acides organiques afin d'éviter toute contamination.

25 Ainsi qu'il a été indiqué plus haut, ces supports solides constitués principalement par des sous-produits issus soit de la production d'éthanol comme les drêches épuisées de distillerie (distiller's spent grains ou DSG), soit de la fermentation alcoolique du maïs comme les fractions riches en protéines récupérées après la distillation. Ces fractions comprennent ce que l'on appelle des drêches de distillerie et une fraction de solubles. Dans ce cas, les principaux sous-produits sont les drêches de distillerie de maïs contenant les solubles (corn distiller's dried grains with solubles ou CDGS), les drêches séchées de distillerie de maïs
30 (corn distiller's dried grains ou CDG) et les solubles séchés de distillerie de maïs (corn distiller's dried solubles ou CDS). Comme autre type de supports solides on peut citer les

produits à base de gluten de maïs (corn gluten feed ou CGF). La valeur moyenne des principales caractéristiques physico-chimiques et la composition moyenne de ces différents produits sont regroupés dans le tableau I

5 ci-après :

Voir tableau I page suivante

T A B L E A U

	Eau %	Mat. Azotées totales %	Mat. Gras %	Cellulose %	Mat. Min. %	Protéines vraies %	Activité de l'eau (A_w)	pH
C.G.F.	10,3	20,5	4,8	7,8	6,7	-	0,52	4,38
C.D.G.S.	9,2	27,3	7,6	7,3	5,9	-	0,50	4,46
C.D.G.	8	29,5	8	12,8	-	-		
D.S.G.	6,8	27,5	9,8	7,5	4,5	17,5		
C.D.S.	10	29,8	-	4,2	-	-		

Tous les pourcentages sont en poids

Les principales caractéristiques des supports solides tels que ceux cités dans le tableau I, sont

- un pH relativement bas, de l'ordre de 5;
- une activité de l'eau (A_w) basse, avantageusement inférieure à 0,55;
- une teneur en matière grasse faible afin d'éviter toute peroxydation de type enzymatique susceptible d'induire des radicaux libres pouvant dénaturer les enzymes liquides à stabiliser.

En outre, ces support solides ne doivent pas présenter des activités enzymatiques in-situ pouvant interférer avec celle des enzymes stabilisées.

La quantité d'enzymes liquides pulvérisée sur le support solide qui est brassé en continu, est de l'ordre de 0,5 à 100 ml par kg de support. En fait le taux maximal de pulvérisation est limité, d'une part, par l'activité de l'eau (A_w) maximale permettant la croissance des microorganismes - ce qui doit être évité - et, d'autre part, par la prise en masse du support et par là-même de la perte de fluidité.

Les exemples suivants n'ont pour rôle que de permettre à l'homme du métier de réaliser la présente invention et ne présentent aucun caractère limitatif.

EXEMPLE 1 :

Dans un appareil de type "24 ACCELA-COTA DE MANESTY" utilisé pour enrober des comprimés, dont les orifices servant normalement à l'injection d'air chaud pour le séchage ont été bouchés, on introduit 6 kg de drèches séchées de distillerie de maïs (CDG). Tout en faisant tourner cet appareil à une vitesse d'environ 12 tours par minute, on pulvérise pendant 6 minutes une β -glucanase liquide au moyen d'un pistolet équipé d'une buse ayant un diamètre de 0,8 millimètre. Le débit de pulvérisation est de 50 ml/mn avec une pression d'air de $3,5 \cdot 10^5$ Pascals. Après un temps d'homogénéisation de trois minutes environ, on arrête la rotation du tambour et on récupère la β -glucanase liquide stabilisée.

Cette enzyme ainsi stabilisée peut être ajoutée par exemple dans un aliment pour volaille dont la formule peut renfermer des taux d'orge compris entre 5 et 70% en poids. Le tableau II ci-dessous donne une formule de croissance pour volailles comportant une enzyme liquide stabilisée selon la présente invention .

10

15

Constituants	% (en poids)
Maïs	31,9
Orge	30
Soja	26,3
Viande	5
Matière grasse	4,3
Composé minéral vitaminisé	1,5
Enzyme liquide stabi- lisée	1

EXEMPLE 2 :

Dans un mélangeur horizontal à ruban de 5000 litres comportant 10 buses pour la pulvérisation, on introduit 2 200 kg de drêches de distillerie de maïs contenant les so-
lubles (CDGS), la vitesse de rotation du mélangeur étant de 20 tours par minute. La pulvérisation d'un mélange de β -glu-
cane et d' α -amylase est réalisée pendant 6,5 minutes avec un
débit de 140 l/h sous une pression d'air de $4,1.10^5$ Pascals.

Après 3 minutes d'homogénéisation, on récupère
le mélange d'enzyme liquide stabilisée pouvant être introduit
au taux de 0,5 ou de 1% en poids dans un aliment pour
volailles pouvant contenir de 5 à 70% en poids d'orge.

Le procédé selon la présente invention conduit donc à la production d'enzymes liquides stabilisées sur un support solide, le tout constituant un prémix pouvant être utilisé pour fabriquer un aliment destiné notamment à des 5 animaux monogastriques tels que des volailles.

REVENDICATIONS

1.- Procédé pour stabiliser des enzymes liquides caractérisé en ce qu'il consiste à pulvériser lesdites enzymes sur un support solide brassé en continu.

5 2.- Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la quantité d'enzymes à pulvériser est comprise entre 0,5 et 100 ml par kg de support solide.

3.- Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que ledit support solide
10 provient de la fermentation alcoolique des grains de maïs.

4.- Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que ledit support solide présente une granulométrie inférieure à 1 millimètre.

5.- Enzymes liquides stabilisées par le procédé
15 selon l'une quelconque des revendications 1 à 4.

6.- Aliment, notamment pour animaux monogastriques, caractérisés en ce qu'il comprend de 0,5 à 1,5% en poids d'au moins une enzyme liquide stabilisée par le procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4.