



MINISTÈRE DES AFFAIRES ÉCONOMIQUES

N° 885.667

Classif. Internat. : A 23 j

Mis en lecture le : 13 -04- 1981

Le Ministre des Affaires Economiques,

*Vu la loi du 24 mai 1854 sur les brevets d'invention ;**Vu la Convention d'Union pour la Protection de la Propriété Industrielle ;**Vu le procès-verbal dressé le 13 octobre 1980 à 15 h. 00**au Service de la Propriété industrielle ;***ARRÊTE :**

Article 1. — *Il est délivré à la Sté dite : MTA SZEGEDI BIOLOGIAI KOZPON ENZIMOLOGIAI INTEZETE,*
Karolina ut 29. 1113, Budapest XI (Hongrie),

repr. par Mme. T. Kennani, élisant domicile chez Mme. S. Van Namen Bergaffe, 17 Chemin du Manil, 1300 Wavre,

un brevet d'invention pour : Procédé pour la modification de la structure des protéines des aliments destinés à l'alimentation humaine et animale,

qu'elle déclare avoir fait l'objet d'une demande de brevet déposée en Hongrie le 21 décembre 1979, n° MA-3255

Article 2. — *Ce brevet lui est délivré sans examen préalable, à ses risques et périls, sans garantie soit de la réalité, de la nouveauté ou du mérite de l'invention, soit de l'exactitude de la description, et sans préjudice du droit des tiers.*

Au présent arrêté demeurera joint un des doubles de la spécification de l'invention (mémoire descriptif et éventuellement dessins) signés par l'intéressé et déposés à l'appui de sa demande de brevet.

Bruxelles, le 13 avril. 1981

PAR DÉLÉGATION SPÉCIALE:

Le Directeur

L. SALPETEUR

0507

B R E V E T D ' I N V E N T I O N

SOCIETE DITE : MTA Szegedi Biológiai Központ Enzimológiai
Intézete

INVENTION : Dr. Tibor DÉVÉNYI, Madame Klára BÓCSA
née KRALOVÁNSZKY - Monsieur Ferenc KOVÁTS,
Dr. Sándor PONGOR, Monsieur Mihály SUCH,
Dr. Gertrud SZABOLCSI

PROCEDE POUR LA MODIFICATION DE LA
STRUCTURE DES PROTEINES DES ALIMENTS DESTINES A
L'ALIMENTATION HUMAINE ET ANIMALE

§ §

La priorité conventionnelle suivante est revendiquée :

Demande de Brevet en HONGRIE
n° MA-3255
du 21 Décembre 1979

R



La présente invention est relative à un procédé de modification de la structure des protéines des aliments destinés aussi bien à l'alimentation humaine qu'à l'alimentation animale, en vue d'augmenter leur utilisation biologique, c'est-à-dire leur valeur nutritive.

Il est bien connu que la plupart des pays sont privés d'alimentation riche en protéines. La malnutrition constitue un problème sérieux dans les pays en voie de développement, tandis que les pays développés manquent de protéines alimentaires et de fourrage pour les animaux, ce qui signifie que la production de viande provenant de protéines végétales est insuffisante. Compte tenu des besoins croissants en protéines végétales et des hausses des prix, les travaux de recherche s'orientent dans deux principales directions dans ce domaine. L'exploitation de l'apport existant peut être augmentée par l'addition d'enzymes et d'autres substances, et d'autre part, de nouvelles sources de protéines sont recherchées par la culture des plantes et une nouvelle technologie agricole. Certaines recherches ont également été effectuées dans le but d'augmenter l'utilisation des protéines par traitement thermique.

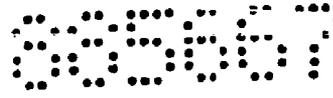
L'utilisation des protéines des aliments destinés aussi bien à l'alimentation humaine qu'à l'alimentation animale, est très faible ; elle se situe entre 25 % et 40 %, même dans des conditions optimales. Une addition d'enzymes et d'autres substances ne conduit pas à une valeur notablement supérieure, tandis qu'un traitement thermique ne fournit qu'indirectement un meilleur taux d'utilisation. Ce fait peut s'expliquer par la croyance erronée que la matière obtenue par traitement thermique renferme des protéines complètement dénaturées, facilement digestibles. Cette supposition peut découler du fait bien connu que des protéines - à l'exception de quelques protéines thermophiles - sont sensibles à la chaleur en solution et qu'elles sont dénaturées à une température relativement basse (aux environs de 50°C), ce qui conduit à une augmentation significa-

R

tive de leur digestibilité protéolytique, alors que des protéines naturelles ne peuvent être que très lentement digérées par les enzymes protéolytiques. Selon toute probabilité, ces observations ont conduit à une interprétation erronée aux termes de laquelle on a supposé que l'on peut obtenir des protéines provenant d'aliments pour animaux, dénaturées et digestibles en soumettant des matières végétales et des farines fourragères à un traitement par la chaleur sèche ou par la vapeur, tel que celui qui est effectué après extraction des graines oléagineuses. La fausseté de cette conclusion est démontrée par le fait qu'une fibre régénérée ressemblant à la laine, peut être produite à partir de la fraction protéique de protéines fourragères industrielles, ce qui prouve que ces protéines conservent la propriété de s'associer, qui caractérise des protéines uniquement, alors qu'elles ont leur structure naturelle. Des expériences effectuées in vitro ont également montré que seulement 50 à 60 % de ces protéines peuvent être digérées. Cette digestibilité limitée explique leur utilisation faible et peu économique in vivo.

L'utilisation de diverses plantes légumineuses, comme le soja et d'autres graines oléagineuses, s'est répandue dans le domaine de la nutrition dans le monde entier. La valeur nutritive de ces plantes est élevée puisqu'elles renferment 20 à 40 % de protéines de haute qualité, fournissant un apport équilibré en aminoacides. L'inconvénient de ces substances réside dans le fait qu'elles renferment des substances anti-nutritives, comme des inhibiteurs de la trypsine et des facteurs anti-vitamines. Heureusement, ils peuvent généralement être rendus inactifs à l'aide d'un traitement thermique.

Dans l'alimentation humaine, les plantes légumineuses sont utilisées sous forme cuite, tandis que des produits provenant de graines oléagineuses sont préparés après dégraissage, traitement thermique et séchage. Les aliments pour animaux ne sont généralement pas cuits, mais

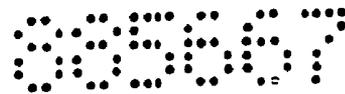


des graines oléagineuses sont employées sous forme de produit grossièrement moulu, extrait et dégraissé. Parmi les plantes riches en protéines, c'est le soja qui est traité en plus grande quantité. Ce procédé comprend l'extraction par l'hexane ou par d'autres solvants, mais aucun traitement chimique n'est utilisé dans ce procédé. Dans ce dernier, la durée du traitement thermique et le contrôle de l'humidité constituent des facteurs particulièrement importants. La valeur nutritive des produits peut être déterminée à l'aide de différents titrages chimiques, enzymatiques et biologiques. Dans le test biologique utilisé le plus couramment, le rapport dit d'efficacité protéique (REP) est déterminé chez des animaux de laboratoires. Cette valeur - déterminée sur des rats en pleine croissance - est généralement comprise entre 1,0 et 1,3 pour le soja brut, entre 1,4 et 1,6 pour une substance traitée modérément et entre 2,2 et 2,4 pour la matière ayant subi un traitement complet (par exemple à 100°C pendant 15 minutes).

Les recherches effectuées par la Demanderesse lui ont permis de mettre en évidence que l'utilisation de soja ayant même la plus forte valeur de REP n'est pas suffisante, car les protéines obtenues selon les procédés connus, ne sont pas dénaturées de façon irréversible.

Il est souhaitable de disposer de matériaux riches en protéines pour l'industrie alimentaire. Pour obtenir de tels matériaux, des farines végétales grossièrement broyées, dégraissées sont extraites par des solutions aqueuses au pH isoélectrique des protéines constituantes. Selon une autre procédure utilisée couramment, des protéines sont dissoutes à un pH légèrement alcalin, puis précipitées au pH isoélectrique. Ces deux méthodes entraînent une perte considérable de protéines (Wilcke et coll., J. Am. Oil Chem. 56 259-261, 1979).

Divers processus chimiques sont également connus pour réaliser le traitement chimique d'aliments destinés



tant à l'alimentation humaine qu'à l'alimentation animale. Le but de ces traitements est généralement de produire des substituts du lait utilisables pour de jeunes animaux. La méthode suivante peut être mentionnée à titre d'exemple :

5 du soja moulu grossièrement ou concassé est partiellement hydrolysé par un traitement exhaustif à l'aide d'acide chlorhydrique gazeux [Jones et coll. J. Anim. Sci. 45, 1073-1078 (1977)]. Ce traitement abaisse le pH à une valeur inférieure à 0,4, ce qui, au cours de la longue durée

10 d'exposition (7 jours) utilisée dans la méthode citée, conduit à l'hydrolyse du matériau traité. On obtient ainsi une matière très soluble, contenant de grandes quantités d'acides aminés libres et de peptides de poids moléculaire relativement bas.

15 Le but du traitement chimique est parfois de diminuer le fort pouvoir tampon des aliments du bétail, qui est nuisible pour les jeunes animaux. Ce pouvoir tampon peut être modifié par l'addition d'électrolytes puissants, tels que l'hydroxyde de sodium, l'acide phosphorique ou

20 l'acide chlorhydrique ou par ajustement du pH à 4 [B.M. Colvin, H.A. Ramsey ; J. Dairy Sci. 51, 898-904 (1968)].

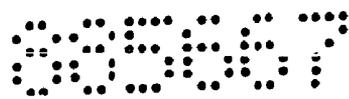
La présente invention a pour but de pourvoir à une méthode chimique simple, permettant d'augmenter l'utilisation des protéines contenues dans les aliments destinés

25 à l'alimentation tant humaine qu'animale.

La présente invention repose sur le fait reconnu par la Demanderesse, qu'en ajustant le pH des protéines contenues dans les aliments destinés à l'alimentation humaine et à l'alimentation animale, à une valeur comprise

30 entre 1,3 et 3,0, on augmente notablement l'utilisation biologique des protéines. (Dans le cas des aliments pour l'homme et pour l'animal qui sont à l'état solide, le terme de pH signifie le pH mesuré dans une suspension aqueuse à 20 % en poids.

35 De plus, la Demanderesse a constaté qu'aux pH compris entre 1,3 et 3,0, les protéines subissent un chan-



gement de structure irréversible. Une importante conséquence de ce changement est représentée par le fait qu'elles perdent leur aptitude à s'associer et à former des fibres. Une preuve directe de la modification de structure, est

5 qu'après ce traitement chimique, les protéines végétales deviennent plus aptes à être coupées par des enzymes protéolytiques. Le changement de structure peut être mis en évidence par une électrophorèse sur gel de polyacrylamide, réalisée en présence de dodécylsulfate de sodium (SDS-PAGE)

10 [Weber et Osborn : J. Biol. Sci. 244, 4406-4412 (1969)]. Le diagramme SDS-PAGE du produit de digestion trypsique est différent dans le cas des protéines traitées et dans celui de protéines non-traitées. Cette méthode fournit un

15 outil également pour faire la distinction entre les protéines traitées conformément au procédé selon la présente invention à des pH compris entre 1,3 et 3,0, et celles qui ont été traitées à des pH situés au-dessous ou au-dessus de ces valeurs. En particulier, dans le cas des protéines traitées au-dessus de pH = 3,0, le diagramme SDS-PAGE de

20 l'hydrolysat trypsique ne peut pratiquement pas être distingué de celui d'une matière non-traitée. D'un autre côté, dans le cas de protéines traitées à un pH inférieur à 0,5, le diagramme SDS-PAGE de l'hydrolysat trypsique et celui de l'échantillon non digéré, peuvent tous les deux être

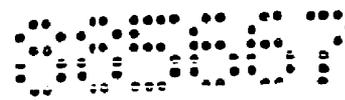
25 distingués des diagrammes correspondants obtenus avec la matière traitée conformément à la présente invention.

La présente invention a en conséquence pour objet un procédé de modification de la structure de protéines contenues dans les aliments destinés à l'alimentation humaine et à l'alimentation végétale, dans le but d'en augmenter l'utilisation biologique. Conformément au procédé selon la présente invention, on ajuste le pH de la matière contenant des protéines, à une valeur comprise entre 1,3 et 3,0, et de préférence entre 1,5 et 2,2 (mesurée dans

30 une suspension aqueuse à 20 % en poids) - en ajoutant un

35 acide et éventuellement en portant ensuite le pH à une va-

R



leur comprise entre 4 et 7.

La présente invention procure ainsi, à la différence des procédés connus, un procédé de modification de la structure de protéines contenues dans les aliments pour l'homme et pour l'animal, par un traitement chimique effectué entre pH 1,3 et 3,0, dans des conditions dans lesquelles aucune hydrolyse de protéines n'a lieu.

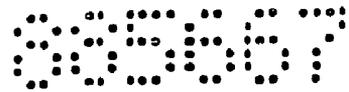
Conformément à un mode de réalisation préféré du procédé selon l'invention, une matière renfermant des protéines est traitée par un acide jusqu'à ce que son pH soit compris entre 1,5 et 2,2, puis éventuellement, le pH est porté à une valeur comprise entre 4 et 5.

Le traitement acide peut être réalisé sur des suspensions aqueuses diluées ou concentrées, ou bien sur des farines grossières de protéines, humides ou sèches, par traitement par un gaz ou par de la vapeur.

La présente invention est particulièrement intéressante pour traiter des matières végétales riches en protéines, telles que des haricots, du soja, des pois, des graines de lupin ; des céréales, telles que du froment, de l'orge, du seigle, du maïs, du riz, du sorgho à balais ; des graines oléagineuses comme des arachides, des graines de tournesol, de colza et les produits secondaires résultants de leur traitement. Dans une variante, des aliments pour animaux plus pauvres en protéines, mais plus riches en hydrates de carbone, peuvent être également soumis à ce traitement.

N'importe quel acide organique ou minéral peut être utilisé pour réaliser le procédé conforme à la présente invention. Des acides minéraux convenables sont les acides chlorhydrique, sulfurique, phosphorique et nitrique. Parmi les acides organiques, les acides acétique et formique sont à conseiller. Ils peuvent être utilisés sous forme diluée ou concentrée ou sous forme de vapeur ou de gaz. L'acide peut être dilué par de l'eau ou par une solution saline. Un agent de dilution particulièrement avantageux

TR



est constitué par la solution aqueuse d'autres substances ou additifs utilisés dans les aliments pour animaux. Une association de différents acides peut également être employée.

5 De la chaux éteinte, de la soude caustique, de l'hydroxyde de potassium ou du carbonate de calcium, peuvent être utilisés pour neutraliser l'acide. L'agent de neutralisation peut être utilisé sous forme diluée ou concentrée. La neutralisation est de préférence effectuée dans
10 l'équipement utilisé pour le traitement par l'acide.

Le procédé conforme à l'invention est indépendant de la température. Il peut donc être réalisé en pratique dans un vaste intervalle de températures allant de 0°C à 100°C. Selon les équipements techniques et les accessoires
15 utilisés, le traitement peut être réalisé en continu ou en discontinu.

Le traitement du produit conforme à la présente invention peut être poursuivi de diverses façons pour obtenir des aliments pour animaux. Si la teneur en humidité a
20 été ajustée à la valeur souhaitable, il n'est pas nécessaire de procéder à un séchage, qui peut être, par ailleurs, réalisé dans un dessiccateur quelconque. Les divers additifs, par exemple des prémélanges, doivent alors être ajoutés en fonction de la technologie à utiliser. Toutes les opérations préparatoires peuvent également être réalisées sans
25 séchage.

Grâce au traitement effectué conformément à la présente invention, la teneur en aminoacides essentiels des protéines ne change pas, tandis que leur valeur nutritive augmente considérablement, ainsi que cela peut être
30 démontré dans des tests d'alimentation animale. Par exemple, la valeur du REP de la farine de soja dégraissé, déterminée sur des rats en pleine croissance, passe de $76 \pm 1,5 \%$ à $85 \pm 1,3 \%$, c'est-à-dire que le traitement conforme à la présente invention se traduit par une augmentation de 12 %
35 du REP.

tandis que les porcs du groupe expérimental n'en consomment que de 2,76 à 2,92 kg.

En conséquence du traitement réalisé conformément à la présente invention, la digestibilité in vitro des protéines est également améliorée. La digestibilité protéolytique peut être caractérisée par la quantité de peptides solubles dans de l'acide trichloroacétique à 10 % (ATC) lors du traitement par la trypsine pendant une période de temps donné [Kunitz : J. Gen. Physiol. 30, 291 (1947)]. Les expériences in vitro sont réalisées de la façon suivante :

Des échantillons finement broyés contenant 700 mg de protéines, sont incubés avec 30 ml d'un tampon au borate de sodium 0,1 M (pH = 8,0) à 37°C pendant 1 heure, puis traités par 6 mg de trypsine bovine (Merck, 3 fois cristallisée) pendant 20 minutes. 2,5 ml de cette solution sont additionnés de 1,25 ml d'ATC à 30 % et les protéines précipitées sont centrifugées à 15 000 tpm pendant 15 minutes. La quantité de peptides solubles dans l'ATC est déterminée par la réaction du biuret [Jennings, Cereal Chem. 38, 476 (1961)] et la valeur à blanc, mesurée au temps zéro est retranchée. Les données sont exprimées en pourcentages de la valeur correspondante obtenue avec le témoin (échantillon non traité). Les expériences effectuées par la Demanderesse montrent que le traitement des protéines du soja par le procédé conforme à la présente invention, augmente la digestibilité in vitro de 40 à 100 %, avec une valeur moyenne de 70 %. Dans le cas d'une farine de graine de tournesol, on obtient une augmentation de 60 %.

Les principaux avantages du procédé conforme à la présente invention sont les suivants :

- a) il fournit une méthode simple et peu coûteuse, permettant d'augmenter considérablement la digestibilité protéolytique des protéines et accroissant ainsi leur utilisation in vivo,
- b) le taux initial de clivage protéolytique augmente ; il en résulte que les protéines peuvent être utili-



sées même par les organismes dont la vitesse de digestion est lente,

- c) la valeur nutritive des protéines traitées devient plus élevée,
- 5 d) étant donné sa simplicité, la méthode peut être adaptée à n'importe quelle autre technologie connue,
- e) en utilisant des protéines traitées, on a besoin de 12 à 28 % de protéines en moins pour obtenir la même quantité de viande.

10 Outre les dispositions qui précèdent, l'invention comprend encore d'autres dispositions, qui ressortiront de la description qui va suivre.

L'invention sera mieux comprise à l'aide du complément de description qui va suivre, qui se réfère à des
15 exemples de mise en oeuvre du procédé objet de la présente invention.

Il doit être bien entendu, toutefois, que ces exemples sont donnés uniquement à titre d'illustration de l'objet de l'invention, dont ils ne constituent en aucune
20 manière une limitation.

Les données de digestibilité in vitro obtenues dans ces exemples sont déterminées selon la méthode qui est décrite plus haut.

EXEMPLE 1

25 On met en suspension 1 kg de soja extrait, finement moulu, dans 5 l d'eau et l'on ajuste le pH à 2,0 en ajoutant de l'acide chlorhydrique concentré. Après 10 minutes d'agitation continue, le pH est porté à 6,5 à l'aide d'hydroxyde de sodium à 50 %, et la suspension est séchée
30 par lyophilisation. La digestibilité du soja est augmentée de 85 %.

Lorsque le traitement est réalisé de la même façon, mais à des pH différents, la digestibilité des protéines varie de la manière indiquée par les données suivantes :
35

R

| | <u>pH</u> | <u>Augmentation de la digestibilité</u> |
|---|-----------|---|
| | 2 | 85 % |
| | 2,5 | 40 % |
| | 3,0 | 15 % |
| 5 | 3,8 | 8 % |

EXEMPLE 2

On mélange 50 kg de soja broyé et extrait, avec 12 l d'acide chlorhydrique de qualité technique, dans un mélangeur de type Nautamix X 438 925 à grande vitesse de rotation (Nautamix Europe B.V., Haarlem, Pays-Bas). La solution homogène est additionnée de 2 kg de carbonate de calcium. La digestibilité du produit augmente de 60 %.

EXEMPLE 3

On agite d'abord 50 kg de graines de tournesol broyées et extraites avec 12 l d'acide chlorhydrique concentré à 60°C pendant 30 minutes, puis avec 1,8 kg d'hydroxyde de calcium dans l'équipement qui est indiqué dans l'exemple 2. La digestibilité du produit est de 53 % supérieure à celle du matériau non traité.

EXEMPLE 4

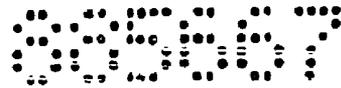
50 kg de lupin blanc broyé sont étalés en couches de 2 cm d'épaisseur et arrosés de 15 l d'acide chlorhydrique à 25 %. Après avoir retourné le produit plusieurs fois, on le mélange à 2,3 kg de carbonate de calcium. La matière est séchée dans un sécheur à plateaux. La digestibilité du produit est augmentée de 42 % par rapport à celle du produit non traité.

EXEMPLE 5

50 kg de soja broyé sont agités dans une atmosphère d'acide chlorhydrique (HCl) en les secouant énergiquement pendant 1,5 minutes. La matière est ensuite soigneusement mélangée avec 2,0 kg d'hydroxyde de calcium. La digestibilité du produit est augmentée de 58 %.

EXEMPLE 6

25 kg de farine de pois sont agités dans une atmosphère d'acide chlorhydrique gazeux en les secouant, puis



additionnés de 0,9 kg d'hydroxyde de calcium. La digestibilité est accrue de 44 %.

EXEMPLE 7

25 kg de farine de germe de froment extraite et
5 séchée, sont traités dans une atmosphère d'acide chlorhydrique gazeux pendant 1 minute, sous agitation intense, puis mélangés à 0,7 kg d'hydroxyde de calcium. La digestibilité in vitro du produit est de 34 % supérieure à celle du témoin non traité.

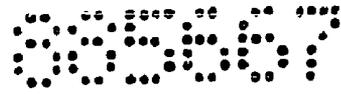
10 EXEMPLE 8

25 kg d'orge concassé en couches de 2 à 3 cm d'épaisseur sont traités par 6 l d'acide chlorhydrique à 25 %, puis après plusieurs retournements, neutralisés à l'aide de 0,5 kg de carbonate de calcium. La digestibilité
15 du produit augmente de 27 % par rapport à celle du témoin non traité.

EXEMPLE 9

800 kg de farine de soja sont agités dans un mélangeur à vis de circulation cônica de type Nautamix
20 MBX-20 R (Nautamix Europe B.V., Haarlem, Pays-Bas) à 70 tpm, puis additionnés de 90 l d'acide chlorhydrique à 35 %. Après 30 minutes d'agitation, la matière est séchée sur un sécheur à plateaux. La digestibilité in vitro du produit est supérieure de 65 % à celle de la farine de
25 soja non traitée.

Ainsi que cela ressort de ce qui précède, l'invention ne se limite nullement à ceux de ses modes de mise en oeuvre, de réalisation et d'application qui viennent d'être décrits de façon plus explicite ; elle en embrasse
30 au contraire, toutes les variantes qui peuvent venir à l'esprit du technicien en la matière, sans s'écarter du cadre, ni de la portée, de la présente invention.

REVENDICATIONS

1°- Procédé de modification de la structure de protéines d'aliments pour animaux et pour l'homme afin d'en augmenter l'utilisation biologique, caractérisé en ce qu'il consiste à ajuster le pH de la matière contenant les protéines à une valeur comprise entre 1,3 et 3,0, et de préférence entre 1,5 et 2,2 (mesurée dans une suspension aqueuse à 20 % en poids) par addition d'un acide et éventuellement, à élever ensuite le pH à une valeur comprise entre 4 et 7.

2°- Procédé selon la Revendication 1, caractérisé en ce que l'acide utilisé est de l'acide chlorhydrique.

3°- Procédé selon l'une quelconque des Revendications 1 ou 2, caractérisé en ce qu'on élève le pH du produit à une valeur comprise entre 4 et 7 en ajoutant une base ou un sel minéral, de préférence l'hydroxyde ou le carbonate de calcium.

4°- Produit modifié caractérisé en ce qu'il est obtenu en mettant en oeuvre le procédé selon la Revendication 1.

5°- Protéines d'aliments pour l'homme et pour l'animal, caractérisées en ce qu'elles sont traitées en mettant en oeuvre le procédé selon l'une quelconque des Revendications 1 à 3.

6°- Procédé de préparation d'aliments pour les animaux, caractérisé en ce que :

- l'on prépare une protéine d'aliments pour animaux choisie dans le groupe formé par la farine de pois, de lupin, d'orge, de soja, de germe de blé, de graine de tournesol;
- l'on traite cette protéine par un acide pour porter son pH à une valeur comprise entre 1,3 et 3,0, pendant une période suffisamment longue pour augmenter la digestibilité de cette protéine, et
- l'on ajuste ensuite le pH de la protéine d'aliments pour animaux à une valeur comprise entre 4 et 7, par addition d'hydroxyde ou de carbonate de calcium.

Le 10 Octobre 1980