

19 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

11 N° de publication :

2 711 142

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

21 N° d'enregistrement national : 93 12209

51 Int Cl^e : C 12 P 7/64, C 11 C 3/08, 3/10

12

BREVET D'INVENTION

B1

54 PROCÉDE POUR LA TRANSFORMATION ENZYMATIQUE DES TRIGLYCERIDES D'UNE MATIERE GRASSE, EN PARTICULIER LA MATIERE GRASSE LAITIÈRE

22 Date de dépôt : 14.10.93.

30 Priorité :

43 Date de la mise à disposition du public de la demande : 21.04.95 Bulletin 95/16.

45 Date de la mise à disposition du public du brevet d'invention : 05.01.96 Bulletin 96/01.

56 Liste des documents cités dans le rapport de recherche :

60 Références à d'autres documents nationaux apparentés :

71 Demandeur(s) : CENTRE DE COOPERATION INTERNATIONALE EN RECHERCHE AGRONOMIQUE POUR LE DEVELOPPEMENT ETABLISSEMENT PUBLIC A CARACTERE INDUSTRIEL ET COMMERCIAL INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE INRA. -FR.

72 Inventeur(s) : GRAILLE JEAN- MONTET DIDIER JEAN LUC - OZENNE CATHERINE LUCETTE - LAMBERET GILLES FRANCOIS

73 Titulaire(s) :

74 Mandataire(s) : CABINET BEAU DE LOMENIE

FR 2 711 142 - B1



Procédé pour la transformation enzymatique des triglycérides d'une matière grasse, en particulier la matière grasse laitière.

La présente invention a pour objet un nouveau procédé pour la transformation enzymatique des triglycérides d'une matière grasse, en particulier la matière grasse laitière.

Ce procédé trouve notamment application pour la modification des propriétés rhéologiques de la matière grasse laitière ainsi que de ses fractions connues sous le nom d'oléine et de stéarine.

En particulier, ce procédé peut être utilisé pour former, à partir d'une oléine de matière grasse laitière, une matière grasse dont le comportement rhéologique est proche de celui d'une stéarine.

D'une façon plus générale, ce procédé peut être utilisé dans l'industrie alimentaire pour valoriser diverses matières grasses, en échangeant de manière sélective ou en remplaçant certains des acides gras constitutifs des triglycérides de ces matières grasses par des acides gras d'autre nature, de manière à modifier les propriétés rhéologiques et/ou nutritionnelles de la matière grasse traitée. Par exemple, dans le cas de la matière grasse laitière, ce procédé permet de remplacer une partie des acides gras à courte chaîne par des acides gras insaturés, dont la consommation est recommandée pour la santé.

La transformation des matières grasses par voie enzymatique, et notamment par transfert d'acyles, interestérisation, transestérisation ou intrainterestérisation a fait l'objet de nombreuses études. D'une façon générale, les procédés décrits dans l'état de la technique comprennent la mise en oeuvre de préparations enzymatiques diverses, dans un système réactionnel comprenant ladite matière grasse seule (transacylation ou intrainterestérisation) ou en mélange avec un co-substrat choisi parmi les acides gras (transestérisation), les esters d'acide gras où une autre matière grasse (interestérisation).

Des procédés d'interestérisation sont par exemple décrits dans les documents GB-1577933 et EP-0035883, et un procédé de transestérisation est par exemple décrit dans le document GB-2 236 537.

Les préparations enzymatiques mises en oeuvre selon ces documents antérieurs, sont constituées de lipases, qui peuvent être régiosélectives (c'est-à-dire qui permettent de transférer des acides se trouvant dans une position spécifique, en particulier en position 1 et/ou en position 3, sur les triglycérides)

et/ou typosélectives (c'est-à-dire qui permettent de transférer préférentiellement certains acides, comme en particulier l'acide oléique, suivant leur nature).

Dans un souci de généralisation, il est indiqué dans ces documents antérieurs que les lipases susceptibles d'être utilisées pour la transformation des triglycérides peuvent être d'origines variées, mais tous les exemples illustratifs
5 mettent en oeuvre des lipases purifiées d'origine microbienne.

Il est en outre à noter que dans le document EP-0035883, la préparation enzymatique est préparée suivant un procédé spécifique comportant la dispersion, l'adsorption ou la liaison de l'enzyme dans ou sur un support, dans un milieu
10 aqueux, puis séchage du mélange ainsi obtenu à une vitesse lente contrôlée.

Par ailleurs, dans le document US-3,190,753, il est préconisé d'utiliser un latex végétal, à savoir le latex de *Carica papaya* pour son activité hydrolasique.

Il a été découvert, et ceci constitue le fondement de la présente invention que les latex végétaux, ainsi que leurs sérum et coagulum, c'est-à-dire en fait des
15 préparations enzymatiques végétales non purifiées, peuvent être utilisées avec succès pour la transformation enzymatique des triglycérides de matières grasses variées, et en particulier de la matière grasse laitière.

Cette découverte est tout à fait inattendue, dans la mesure où :

– d'une part, il n'est pas possible de dire aujourd'hui si les réactions
20 constatées sont catalysées par des lipases ou par des acyltransférases plus générales comme les protéases ; et

– d'autre part, on sait que les enzymes à forte activité lipase ou hydrolase n'ont pas forcément une activité acyltransférase en transestérification (alcoololyse et acidolyse) ou en interestérification, et inversement. (P.Galzy et al. Rev. fse Corps
25 gras, (1986), 33, 307-310).

L'originalité de la présente invention réside donc dans le fait que rien ne laissait prévoir que des préparations enzymatiques à base de latex végétaux, connus pour leur activité protéolytique pourraient manifester une activité acyltransférase, notamment en présence d'une phase aqueuse limitée, semblable
30 à celle des lipases, d'autant plus que jusqu'à présent personne n'a isolé de lipase de latex.

Ainsi, selon un premier aspect, la présente demande vise à couvrir un procédé pour la transformation enzymatique des triglycérides d'une matière grasse principale par transfert d'acyles, interestérification, transestérification ou

intrainterestérisation, du type comprenant la mise en oeuvre d'une préparation enzymatique dans un système réactionnel comprenant ladite matière grasse principale seule ou en mélange avec un co-substrat choisi parmi les acides gras, les esters d'acides gras, ou une matière grasse secondaire, caractérisé en ce que
5 ladite préparation enzymatique comprend un latex végétal, ou un sérum ou coagulum de celui-ci.

La matière grasse principale susceptible d'être traitée par le procédé conforme à l'invention peut être de nature et d'origine variées. Avantagement, la matière grasse principale sera choisie parmi la matière grasse laitière, son oléine
10 ou sa stéarine.

De même, la nature et l'origine de la matière grasse secondaire éventuellement utilisée peuvent être variées. A titre d'exemple de matière grasse secondaire, on citera : les huiles de tournesol, de palme, de coco, de colza, de soja, etc...

De même encore, les acides gras ou esters d'acides gras, éventuellement utilisés comme co-substrat, peuvent être variés. A titre d'exemple gras, on citera les acides gras totaux de tout corps gras alimentaire ou officinal ou de synthèse comme l'acide undécylénique, pour des usages non alimentaires et à titre
15 d'exemple d'esters d'acide gras, on citera les esters éthyliques, isopropyliques ou méthyliques de ces acides suivant que l'objectif est alimentaire ou non alimentaire.
20

Le latex végétal susceptible d'être utilisé dans le cadre de la présente invention peut provenir de plantes laticifères variées. De préférence, il s'agira d'un latex d'Euphorbiacées ou de Caricacées, et en particulier d'un latex d'Euphorbia characias ou de Carica papaya.

Selon une caractéristique particulière, le latex précité se présente sous forme sèche, par exemple sous forme d'une poudre, de préférence obtenue par lyophilisation.
25

Par forme sèche, on entend désigner un latex dont le taux d'humidité résiduelle est inférieur ou égal à environ 15 %, et de préférence inférieur à 10 %.

Selon une autre caractéristique particulière, la préparation enzymatique contenant le latex végétal est issue d'une phase aqueuse dont le pH est compris entre 5,5 et 9, de façon à conférer un pH correspondant à la phase aqueuse du système réactionnel, même si celle-ci est quantitativement limitée.
30

Eventuellement, cette préparation enzymatique peut être rendue magnétique, de façon à faciliter son retrait du système réactionnel.

Les conditions générales de mise en oeuvre du procédé conforme à la présente invention pourront être déterminées relativement aisément par l'homme
5 de métier à la lecture de la littérature existante.

Il est cependant à noter que les meilleurs résultats sont obtenus lorsque l'activité de l'eau (a_w) du système réactionnel est comprise entre 0,1 et 0,6 et de préférence voisine de 0,3, et lorsque la température du système réactionnel est comprise entre 10 et 90°C, de préférence entre 50 et 70°C.

10 Dans le cadre de la présente description et des revendications, l'activité de l'eau est définie comme le rapport de la pression de vapeur d'eau d'une solution ou d'une poudre sur la pression partielle de vapeur d'eau de l'eau pure à la même température. Les mesures sont effectuées à 40°C à l'aide d'un appareil de type Novasina RTD 33, TH2, après calibrage avec des sels étalons d'activité connue.

15 D'une façon générale, le rapport molaire entre le substrat, c'est-à-dire la matière grasse principale, et le co-substrat sera comprise entre 10:1 et 1:10 et la quantité de préparation enzymatique utilisée sera de l'ordre de 0,5 à 10 % en poids rapportée au poids total du substrat et du co-substrat formant la phase grasse.

Le procédé conforme à la présente invention sera avantageusement mis en
20 oeuvre en continu sur un lit fixe composé de la préparation enzymatique seule ou en mélange avec un support.

A titre d'exemple de support, on peut citer les celluloses, la célite, les silices, les alumines, les fibres creuses, etc...

Ce procédé peut également être mis en oeuvre dans un réacteur continu à lit
25 fluidisé.

Selon un second aspect, la présente demande vise à couvrir l'utilisation des latex végétaux comme système enzymatique dans la transformation des triglycérides d'une matière grasse par transfert d'acyles, interestérisation ou transestérisation ou intrainterestérisation.

30 L'invention sera mieux comprise à la lecture des exemples non limitatifs suivants :

Dans ces exemples, et sauf indication contraire, les pourcentages sont exprimés en pourcentages molaires pour les substrats et les co-substrats, et en pourcentage en poids pour la préparation enzymatique.

L'expression CX:Y, où X et Y sont des nombres entiers, désignera un acide gras comportant X atomes de carbone et Y doubles liaisons.

La précision ΔZ où Z est un nombre entier, désignera la position de l'éventuelle double liaison.

5 Ainsi, l'expression C 11:1 Δ 10 désignera l'acide undécylénique dont la double liaison est portée par l'atome de carbone en position 10.

Par ailleurs, les abréviations suivantes seront utilisées :

TG. : triglycéride ;

MGL : matière grasse laitière ;

10 AG : acide gras libre ;

EM : ester méthylique.

EXEMPLE 1

10 mM de triglycérides de matière grasse laitière anhydre sont mises en réaction avec 10 mM d'undécylénate de méthyle (C11:1 Δ 10) sous agitation en
15 présence de 5 % en poids (par rapport au poids de la phase grasse) de latex de Carica papaya (commercialisé sous la dénomination SIGMA P3250) à une température de 37°C pendant une durée de 6 heures.

La fraction triglycéridique est séparée en fin de réaction par chromatographie sur couche mince.

20 L'analyse des acides gras de ces triglycérides peut être ensuite réalisée d'une façon connue en soi, par exemple par chromatographie en phase gazeuse :

– soit, dans le cas de triglycérides renfermant des chaînes courtes (c'est-à-dire comportant jusqu'à 10 atomes de carbone et moins) après transformation des triglycérides en dibutylalkylcarbinols selon la méthode décrite par PINA M. et al.,
25 Rev. fse Corps Gras (1991), 38, 213–218 ;

– soit, dans les autres cas, après transformation des triglycérides en esters méthyliques suivant la norme AFNOR n°NFT60234 (mai 1977)

30 Les résultats obtenus ont montré qu'environ 6 % (en mole) de C11:1 ont été incorporés dans la matière grasse laitière, principalement en substitution des chaînes courtes (de 4 à 10 atomes de carbone).

Cet exemple démontre donc l'activité acyltransférase du latex de *Carica papaya*.

Ce protocole expérimental permet, d'une façon générale, de mesurer l'activité acyltransférase d'un latex donné en "opposant" les triglycérides d'une matière grasse donnée, suivant le cas à un acide gras libre, en particulier l'acide undécynélique, ou à son ester méthylique.

EXEMPLE 2

On a étudié l'influence de la température et du rapport molaire substrat/co-substrat sur l'interestérification d'une matière grasse laitière catalysée par le latex de *Carica papaya* de l'exemple 1.

Dans cet exemple, le co-substrat utilisé est l'undécylénate de méthyle.

Le rapport molaire substrat/co-substrat a été fixé à 1/1, puis 1/2, et on a fait varier la température de 25 à 70°C, la durée de la réaction étant fixée à 16 heures.

Les résultats obtenus ont été regroupés dans le tableau I ci-dessous.

On constate que l'on incorpore plus de C11:1 avec le rapport 1/2 et que la température optimale est de 60°C.

Près de 16 % de C11:1 ont été incorporés dans les conditions réactionnelles optimales, principalement en substitution des acides courts ayant de 4 à 10 atomes de carbone.

20

TABLEAU I

		TG/EM 1	TG/EM 1	TG/EM 1	TG/EM 1/2	TG/EM 1/2	TG.EM 1/2	MGL
	a. gras	25 °C	37 °C	50 °C	50 °C	60 °C	70 °C	
25	C 4:0	13.9	13.3	11.9	11.1	9.4	11.6	16.5
	C 6:0	6.6	6.3	5.4	5.3	4.5	5.2	6.3
	C 8:0	2.7	2.9	2.5	2.2	1.8	1.8	2.7
	C10:0	5.0	5.0	4.7	4.7	4.3	4.3	4.9
	C11:1	0.7	2.1	6.1	11.6	16.0	11.9	0
	C12:0	4.8	4.7	4.5	4.3	4.3	4.3	4.5
	C14:0	11.9	11.9	11.7	11.1	10.6	11.5	11.6
30	C16:0	23.7	23.4	23.4	22.1	22.0	23.0	23.5
	C16:1	1.4	1.7	1.5	1.4	1.4	1.1	1.4
	C18:0	9.4	9.4	9.1	8.6	8.2	8.4	9.4
	C18:1	19.1	18.8	18.4	16.8	16.6	16.3	18.5
	C18:2	0.8	0.6	0.8	0.7	0.8	0.6	0.7
	C4à10	28.2	27.5	24.5	23.3	20.0	22.9	30.4

5

EXEMPLE 3

Le protocole expérimental de l'exemple 2 a été reproduit, en utilisant à titre de co-substrat l'acide undécylénique (C11:1 AG) dans un rapport molaire substrat/co-substrat égal à 1/2.

Les résultats obtenus qui sont reportés au tableau II montrent que la température réactionnelle optimale est également de 60°C et que dans ces conditions environ 20 % d'acide gras C11:1 sont incorporés aux triglycérides.

TABLEAU II

15

	TG/AG 1/2	TG/AG 1/2	TG/AG 1/2	TG/AG 1/2	MGL
A. gras	37 °C	50 °C	60 °C	70 °C	
20 C 4:0	12.8	13.8	8.9	10.9	16.5
C 6:0	6.0	6.0	4.2	5.3	6.3
C 8:0	2.5	2.5	1.7	2.1	2.7
C10:0	5.0	4.6	3.9	4.5	4.9
C11:1	6.3	10.8	19.2	10.8	0
C12:0	4.5	4.3	3.8	4.3	4.5
25 C14:0	11.5	10.7	10.4	11.3	11.6
C16:0	23.0	21.0	21.3	22.8	23.5
C16:1	1.2	1.2	1.3	1.2	1.4
C18:0	9.2	8.2	8.3	9.1	9.4
C18:1	17.6	16.2	16.2	16.8	18.5
C18:2	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
C4 à 10	26.3	26.9	18.7	22.6	30.4

30

EXEMPLE 4

Les exemples 2 et 3 ont été reproduits en utilisant un latex de Carica papaya moins "brut", à savoir le latex commercialisé sous la dénomination SIGMA P3375.

5 Le taux d'incorporation de C11:1 est sensiblement plus faible que celui obtenu aux exemples 2 et 3.

On peut en déduire que le latex est d'autant plus actif qu'il est plus brut.

TABLEAU III

10

	TG/EM 1	TG/EM 1	TG/EM 1	TG/EM 1/2	TG/EM 1/2	TG/AG 1/2	TG/AG 1/2	MGL
15	25 °C	37 °C	50 °C	50 °C	60 °C	50 °C	60 °C	
a.gras								
C 4:0	11.0	13.3	9.7	8.5	8.4	10.5	6.9	12.5
C 6:0	5.8	6.6	5.3	4.8	4.6	5.8	3.7	5.4
C 8:0	2.6	3.1	2.7	2.1	2.0	2.6	1.7	2.6
C10:0	4.8	5.2	4.7	4.5	4.2	4.1	3.8	4.6
20 C11:1	1.0	2.0	4.0	10.1	9.5	6.9	16.7	0
C12:0	4.3	4.4	4.3	4.2	4.1	4.1	3.7	4.3
C14:0	12.5	11.7	12.0	11.9	11.6	11.6	10.7	12.1
C16:0	24.2	22.9	24.1	23.3	23.8	23.2	23.4	24.5
C16:1	1.5	1.3	1.4	1.5	1.3	1.5	1.2	1.5
C18:0	10.4	9.5	10.3	9.6	9.8	9.6	9.4	10.7
C18:1	12161	19.3	20.6	19.0	19.8	19.5	18.2	21.7
25 C18:2	0.8	0.8	0.8	0.3	0.8	0.7	0.7	0.8
C4à10	24.2	28.2	22.4	19.9	19.2	27.6	16.1	25.1

EXEMPLE 5

Les exemples 2 et 3 ont été reproduits, en remplaçant le latex de *Carica papaya* par un latex lyophilisé d'*Euphorbia characias* récolté dans la région de
5 Montpellier.

Le rapport molaire substrat/co-substrat a été fixé dans cet exemple à 1/2.

Les résultats obtenus (tableau IV) montrent que ce latex est particulièrement intéressant pour la transformation des triglycérides par
10 interestérisation.

Dans les conditions réactionnelles optimales, il est possible d'incorporer 20 % de C11:1, à 50°C par interestérisation, alors que dans les mêmes conditions on incorpore moins de 1 % de C11:1 par transacylation.

15

TABLEAU IV

		AG	AG	AG	EM	EM	EM	MGL
	a. gras	37 °C	50 °C	60 °C	37 °C	50 °C	60 °C	
20	C 4:0	10.6	11.6	9.7	10.4	12.1	10.3	12.5
	C 6:0	5.2	5.5	5.0	5.1	5.7	5.1	5.4
	C 8:0	2.6	2.7	2.7	1.7	1.9	1.6	2.6
	C10:0	4.6	4.7	4.4	3.8	3.9	3.8	4.6
	C11:1	0.8	0.5	0.4	17.5	19.8	13.0	0
	C12:0	4.3	4.3	4.2	3.6	3.6	3.0	4.3
25	C14:0	12.4	12.5	12.6	10.0	9.6	11.0	12.1
	C16:0	24.9	24.6	25.4	21.1	19.1	22.2	24.5
	C16:1	1.5	1.5	1.4	1.0	1.2	1.2	1.5
	C18:0	10.6	10.3	11.0	8.1	7.7	8.9	10.8
	C18:1	21.5	21.0	22.3	16.9	14.9	18.3	21.1
	C18:2	0.9	0.9	0.9	0.7	0.5	0.8	0.8
30	C4à10	23.0	24.2	21.8	21.0	23.6	20.8	25.1

EXEMPLE 6

On a procédé à une étude cinétique de l'incorporation de C11:1, pour des rapports molaires substrat/co-substrat de 1/2, 1/1 et 2/1 (le co-substrat étant sous
5 forme d'acide libre) à 60°C avec 5 % de latex de *Carica papaya* commercialisé sous la dénomination SIGMA P 3250; Le diagramme obtenu, reporté sur la figure unique annexée montre que le rapport substrat/co-substrat 1/1 est le plus adapté à la transformation enzymatique des triglycérides par transacylation.

10 En outre, il a été constaté que la préparation enzymatique peut être recyclée de nombreuses fois sans perte notable d'activité.

EXEMPLE 7

De l'oléine 19 de matière grasse laitière est opposée à des acides gras de palme, dans des rapports molaires 1/2, 1/1 et 2/1.

15 La réaction est réalisée à 60°C pendant une durée de 16 heures.

Les résultats obtenus, reportés au Tableau V ci-dessous, montrent une transformation de l'oléine; l'échange des acides gras se faisant principalement au dépend des acides gras courts (de C4 à C10).

20 Le point de goutte passe de 19 à 34°C environ, pour les triglycérides obtenues après neutralisation.

Cet exemple montre les nombreuses possibilités d'applications industrielles du procédé conforme à la présente invention, par exemple dans le domaine de la préparation de base pour margarine de table, pâtisseries ou autres produits alimentaires.

25

TABLEAU V

5

		Oléine	Palme	TG/AG 1/2	TG/AG 1/1	TG/AG 2/1
	C4:0	18,7		11,1	10,5	12,6
10	C6:0	7,6		5,2	4,8	5,7
	C8:0	3,1		2,4	2,6	2,8
	C10:0	4,9		4,5	4,1	4,4
	C12:0	4,7	1,5	4,4	4,3	4,5
15	C14:0	11,0	1,8	9,7	10,1	10,8
	C16:0	22,2	46,0	29,1	28,8	27,2
	C16:1	1,4	0,3	1,3	1,3	1,4
	C18:0	7,3	5,2	6,7	6,9	6,9
20	C18:1	18,0	37,2	22,8	23,8	21,4
	C18:2	1,2	8,0	2,7	2,8	2,3
	C4 à C10	34,3		23,2	22,0	25,5
25	Insaturés	20,6	45,5	26,8	27,9	25,1
	% poids TG AG	100		94 6	93 7	91 9
	Point de goutte °C	19		34	34	33,5

30

EXEMPLE 8

Dans cet exemple, la préparation enzymatique utilisée comprend un latex de Carica papaya commercialisé sous la dénomination SIGMA P3250 fixé sur des fibres creuses commercialisées par la Société MERCK sous la dénomination
5 DYNAGARD.

La réaction est effectuée en batch ; la quantité de préparation enzymatique (latex fixé) étant choisie de façon à être suffisante pour mettre en oeuvre 3 % en poids de latex par rapport à la phase grasse.

Dans cet exemple, les triglycérides de la matière grasse laitière ont été
10 opposés à l'acide undécylénique.

Le tableau VI ci-dessous montre que d'excellents résultats, comparables à ceux obtenus avec du latex libre, peuvent être obtenus avec une préparation enzymatique comprenant du latex fixé sur des fibres creuses.

15

TABLEAU VI

		MGL	Enzyme libre	Enzyme fixée
20	C4:0	12,5	7,0	9,0
	C6:0	5,4	3,7	4,3
	C8:0	2,6	1,6	2,0
25	C10:0	4,6	3,8	4,0
	C11:1	—	16,0	12,6
	C12:0	4,3	4,0	3,9
	C14:0	12,1	11,8	11,8
30	C16:0	24,5	23,7	22,6
	C16:1	1,5	1,2	1,1
	C18:0	10,7	8,8	9,3
	C18:1	21,1	17,0	18,6
	C18:2	0,8	0,4	0,8

EXEMPLE 9

Dans cet exemple, de l'oléine 22 de matière grasse laitière a été opposée à de l'oléine de palme ou de la stéarine de palme.

La réaction a été réalisée en présence de latex de *Carica papaya* commercialisé sous la dénomination SIGMA P3250 à 60°C, pendant une durée de 6 heures 30.

Les résultats obtenus, qui sont reportés dans le tableau VII ci-après, sont tout à fait satisfaisants.

10

TABLEAU VII

	Oléine de MGLA	Produit obtenu avec			
		AG de palme	"Oléine" de palme	"Stéarine" de palme	
	C4:0	15,3	8,0	8,5	9,4
%	C6:0	6,2	3,9	4,6	4,7
	C8:0	2,5	1,8	2,2	2,1
m	C10:0	4,0	3,2	3,2	3,5
o	C12:0	3,5	3,4	3,0	3,2
l	C14:0	10,6	8,9	9,3	9,9
a	C16:0	22,8	28,3	29,7	31,0
i	C16:1	1,7	1,3	1,9	1,7
r	C18:0	9,1	10,8	10,5	9,6
e	C18:1	23,3	27,7	25,3	23,5
	C18:2	1,0	2,7	1,8	1,3
25	C4 à 10	28,0	16,9	18,5	19,7
	Saturés	74,0	68,3	71,0	73,5
	Insaturés	26,0	31,7	29,0	26,5
	% poids DG	—	8	7,9	7,5
30	TG	100	92	92,1	92,5
	Pt de goutte (°C)	22,5	32	32	33

EXEMPLE 10

Des acides gras d'oléine 22 de matière grasse laitière ont été préparés.

Au cours de cette préparation, les acides gras courts sont perdus en partie, notamment l'acide en C4.

5 2 lots ont été constitués :

– l'un par les acides gras ainsi obtenus,

– l'autre, après ajout d'acide butyrique pour obtenir la concentration initiale.

Les deux lots d'acides gras ainsi préparés ont été opposés à l'oléine 22 elle-même, dans un rapport molaire MGL/AG égal à 1/1.

10 On a en outre réalisé une intrainterestérification sur l'oléine 22 utilisée.

Les trois réactions donnent des résultats voisins, comme le montre le tableau VIII ci-dessous.

On constate également que le point de goutte passe de 22 à 30, 29,5 et 28°C, respectivement.

15

TABLEAU VIII

		Oléine	+AG Oléine avec C4	Oléine +AG oléine sans C4	Intra Interestérifiée
20	C4:0	15,3	14,9	10,4	15,2
	C6:0	6,3	6,0	5,5	6,6
	C8:0	2,5	2,6	2,7	2,9
25	C10:0	4,0	4,5	4,4	4,5
	C12:0	3,5	4,1	4,2	4,0
	C14:0	10,6	12,0	12,5	11,3
	C16:0	22,8	24,4	25,8	22,4
30	C16:1	1,7	1,7	1,7	1,7
	C18:0	9,1	9,1	9,9	9,3
	C18:1	23,3	20,2	22,4	21,2
	C18:2	1,0	0,5	0,4	0,9
	Pt goutte °C	22	30	29,5	28

EXEMPLE 11

Un essai en continu sur pilote (capacité 10 kg) a confirmé les résultats obtenus à l'échelle du laboratoire.

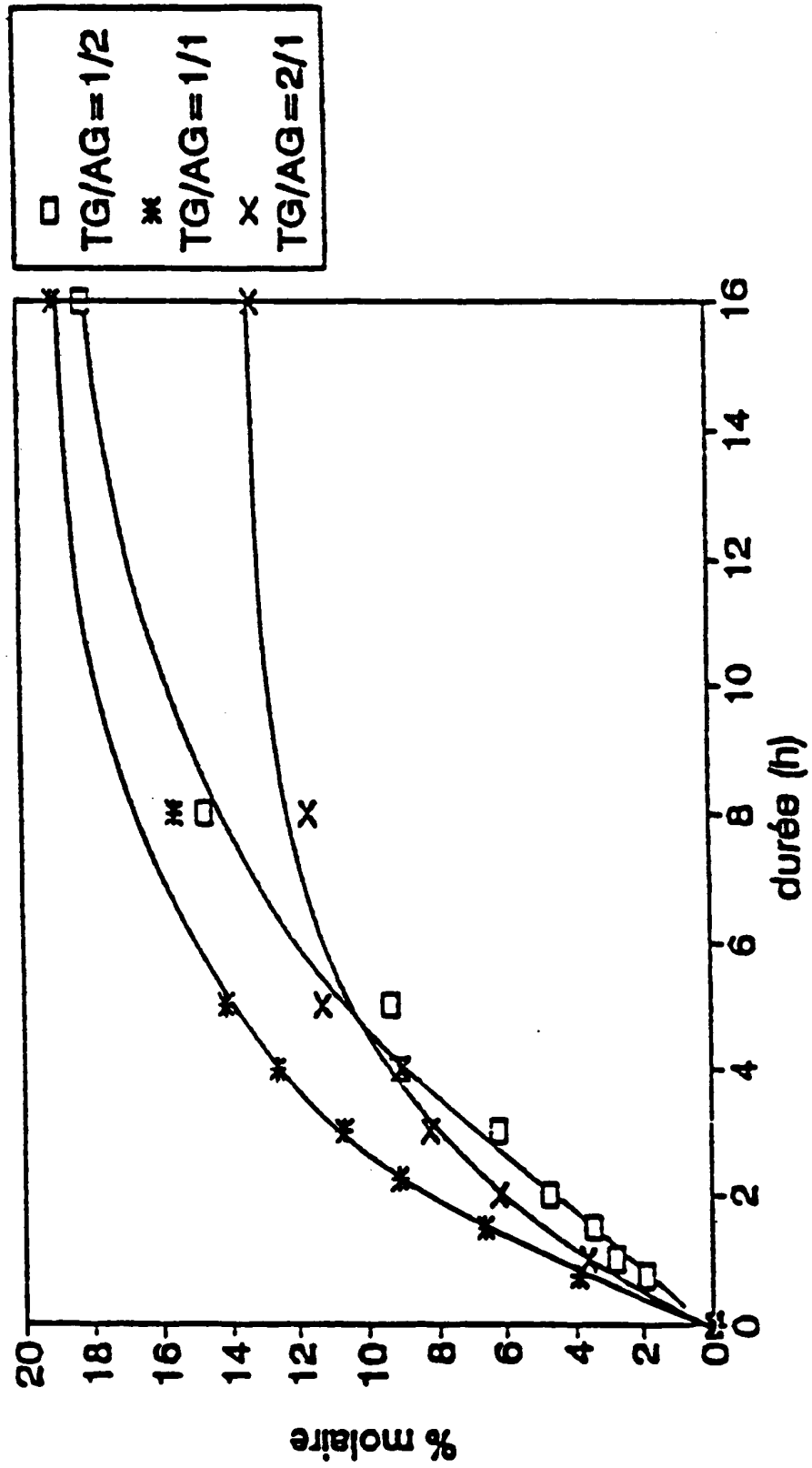
REVENDEICATIONS

1. Procédé pour la transformation enzymatique des triglycérides d'une matière grasse principale par transfert d'acyles, interestérification, transestérification ou intrainterestérification, du type comprenant la mise en oeuvre
5 d'une préparation enzymatique dans un système réactionnel comprenant ladite matière grasse principale seule ou en mélange avec un co-substrat choisi parmi les acides gras, les esters d'acide gras, ou une matière grasse secondaire, caractérisé en ce que ladite préparation enzymatique comprend un latex végétal, ou un sérum ou coagulum de celui-ci.
- 10 2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la matière grasse principale précitée est choisie parmi la matière grasse laitière, son oléine ou sa stéarine.
3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que le latex végétal précité est un latex d'Euphorbiacées ou de Caricacées.
- 15 4. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que le latex précité est un latex d' Euphorbia characias ou de Carica papaya.
5. Procédé selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que la l'activité de l'eau (a_w) du système réactionnel précité est comprise entre 0,1 et 0,6, et est de préférence égale à 0,3.
- 20 6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que le latex précité se présente sous forme d'une poudre, de préférence obtenue par lyophilisation.
7. Procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la préparation enzymatique précitée est issue d'une phase aqueuse dont le pH est
25 compris entre 5,5 et 9, de façon à conférer un pH correspondant à la phase aqueuse résiduelle du système réactionnel précité.
8. Procédé selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que la préparation enzymatique précitée est rendue magnétique, de façon à faciliter son retrait du système réactionnel précité.
- 30 9. Procédé selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que la température du système réactionnel est comprise entre 10 et 90°C, de préférence entre 50 et 70°C.

10. Procédé selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisé en ce qu'il est réalisé en continu sur un lit fixe composé de la préparation enzymatique seule ou en mélange avec un support.

5 11. Utilisation des latex végétaux comme système enzymatique dans la transformation des triglycérides d'une matière grasse par transfert d'acyle, interestérification, transestérification ou intrainterestérification.

1/1



RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14 et L.612-17 du code de la propriété intellectuelle;
articles 40 à 53 du décret n° 79-822 du 19 septembre 1979 modifié

OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

Après l'accomplissement de la procédure prévue par les textes rappelés ci-dessus, le brevet est délivré. L'Institut National de la Propriété Industrielle n'est pas habilité, sauf dans le cas d'absence **manifeste** de nouveauté, à en refuser la délivrance. La validité d'un brevet relève exclusivement de l'appréciation des tribunaux.

L'I.N.P.I. doit toutefois annexer 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. Ce rapport porte sur les revendications figurant au 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'ÉTABLISSEMENT DU PRÉSENT 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 CITÉS DANS LE PRÉSENT 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	
Référence des documents (avec indication, le cas échéant, des parties pertinentes)	Revendications du brevet concernées
US - A - 3.190.753 (W. S. CLAUS) 22 Juin 1965 * colonne 1, ligne 57 - colonne 2, ligne 17 ; revendications *	1 à 4
<p align="center">2.ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN TECHNOLOGIQUE GENERAL</p> <p>CA - A - 1.136.920 (BRITISH COLUMBIA RESEARCH COUNCIL) 7 Décembre 1982</p> <p>FR - A - 2.301.267 (LEK TOVARNA FARMACEVTSKIH) 17 Septembre 1976</p> <p>CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 117, no. 5, 3 Août 1992, Columbus, Ohio, US ; abstracts no. 43208a, MOULIN, ANDRE ET AL. 'Purification of a lipase from the latex of Euphorbia characias using an apolar solvent extraction method.' page 388 ; & C. R. ACAD. SCI., SER III vol. 314, no. 8, 1992 pages 337 - 342</p> <p>CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 98, no. 17, 25 Avril 1983, Columbus, Ohio, US ; abstract no. 143683j, page 605 ; & JP - A - 57.156.482 (OGAWA, YOSHIKAZU) 27 Septembre 1982</p>	
3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND DE LA VALIDITE DES PRIORITES	
Référence des documents (avec indication, le cas échéant, des parties pertinentes)	Revendications du brevet concernées
NEANT	