

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 384 183**

51 Int. Cl.:
A23K 1/00 (2006.01)
A23K 1/165 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06793400 .0**
96 Fecha de presentación: **11.09.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1926393**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.06.2008**

54 Título: **Granulado enzimático conteniendo fitasa I**

30 Prioridad:
12.09.2005 DE 102005043323

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
02.07.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
02.07.2012

73 Titular/es:
BASF SE
67056 Ludwigshafen, DE

72 Inventor/es:
LOHSCHIEDT, Markus;
BETZ, Roland;
BRAUN, Jörg;
PELLETIER, Wolf y
ADER, Peter

74 Agente/Representante:
Carvajal y Urquijo, Isabel

ES 2 384 183 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Granulado enzimático conteniendo fitasa I.

5 La presente invención se relaciona con nuevos granulados enzimáticos conteniendo fitasa(s), que sean apropiados como aditivos para alimentos para animales, así como un procedimiento para su elaboración. La invención hace también referencia al empleo de los granulados enzimáticos conteniendo fitasa(s) en composiciones de piensos para animales y particularmente en composiciones de alimentos para animales pelletizadas, obtenibles utilizando los granulados enzimáticos conteniendo fitasa(s).

10 Es generalmente habitual añadir fitasa al pienso, para garantizar un mejor aprovechamiento del mismo, una mejor calidad del producto o una menor carga del entorno. Además, es una práctica común suministrar el alimento para animales en forma pelletizada, ya que un pelletizado no sólo simplifica la administración del mismo, sino que también mejora su manipulación. Por otra parte, se ha demostrado que con los piensos pelletizados pueden digerirse mejor determinados componentes de los mismos y que los constituyentes añadidos al alimento para animales, como por ejemplo vitaminas, enzimas o elementos de traza, pueden integrarse mejor en la mezcla de alimentos para animales.

15 Para reducir la carga de gérmenes (higienización) de estos piensos se efectúa a menudo un tratamiento en caliente. Un tratamiento en caliente se lleva a cabo también en el contexto del acondicionamiento necesario para el pelletizado, en el que el alimento para animales se mezcla con vapor y, de este modo, se calienta y humedece. En el paso de pelletizado propiamente dicho se prensa el alimento para animales con un molde. Otros procesos empleados en la industria de los piensos son la extrusión y la expansión. El efecto del calor en todos estos procesos
20 representa un problema, ya que las enzimas contenidas en estas mezclas de piensos animales, como la fitasa, son generalmente térmicamente inestables. Se emprendieron, por consiguiente, diversos esfuerzos para mejorar la estabilidad térmica y particularmente la estabilidad de pelletizado de las composiciones de alimentos para animales conteniendo enzima(s).

25 Reiteradamente se ha propuesto mejorar la estabilidad de pelletizado de los granulados enzimáticos conteniendo fitasa(s) recubriendo de un granulado conteniendo enzima(s) no recubierto.

La WO 2000/47060 describe, por ejemplo, granulados enzimáticos conteniendo fitasa(s), que sean apropiados como aditivos para piensos animales y que tengan un recubrimiento de polietilenglicol.

30 La WO 01/00042 muestra un procedimiento para el recubrimiento de granulados enzimáticos conteniendo fitasa(s) con polímero. Como agente de recubrimiento se proponen disoluciones acuosas de polímeros de óxido de polialquileno, de homo- y copolímeros de la vinilpirrolidona, de alcoholes polivinílicos y de hidroxipropilmetilcelulosa, así como dispersiones acuosas de polímeros de (met)acrilato alquílico y dispersiones de acetato de polivinilo.

La WO 03/059086 muestra, por otra parte, un procedimiento para la elaboración de granulados enzimáticos conteniendo fitasa(s) con estabilidad de pelletizado mejorada, en el que se recubre un granulado bruto conteniendo fitasa(s) con una dispersión acuosa de una sustancia hidrófoba.

35 Con el recubrimiento puede mejorarse esencialmente la estabilidad de los granulados, por el contrario, se presenta una reducción de la actividad de la fitasa, aunque las estabilidades obtenidas no sean completamente satisfactorias.

En la EP-A-0 257 996 se propone estabilizar las enzimas para mezclas de piensos animales pelletizándolas en la mezcla con un soporte, que tenga una mayor proporción de harina de cereales.

40 La WO 98/54980 describe, por otra parte, granulados conteniendo enzima(s) con estabilidad de pelletizado mejorada, que se fabrique mediante extrusión de una disolución enzimática acuosa con un soporte a base de un hidrato de carbono comestible y posterior secado. No se describe un recubrimiento del granulado. La estabilidad de estos granulados no es satisfactoria.

Gracias a la WO 2005/074705 se sabe, por otra parte, que la adición de goma arábiga o proteína vegetal a las formulaciones enzimáticas líquidas o sólidas mejora la estabilidad de la enzima en estas formulaciones.

45 La WO 2005/074707 muestra formulaciones enzimáticas líquidas o sólidas, que comprendan al menos una fosfatasa, un estabilizador y una proteína animal. Si se tratara de una formulación sólida, ésta podría extrusionarse para dar granulados. Estos granulados se pueden recubrir.

La DE 199 22 753 muestra formulaciones enzimáticas instantáneas en forma de aglomerados, que puedan estar provistos de un recubrimiento hidrosoluble.

La DE 198 59 385 muestra granulados conteniendo enzima(s) apropiados para la alimentación animal.

La US 6,610,519 muestra granulados de fitasa, elaborados añadiéndoles agua de hinchamiento del maíz. El ácido láctico obtenido sirve para estabilizar las enzimas. Los granulados se pueden recubrir con sustancias hidrófobas.

5 Es, por tanto, objeto de la presente invención proporcionar granulados enzimáticos conteniendo fitasa(s) con estabilidad enzimática, particularmente estabilidad de pelletizado, mejorada. Los granulados enzimáticos deberían poder producirse además de manera sencilla y económica. Además, no deberían producirse pérdidas de actividad enzimática durante la elaboración.

10 Se ha comprobado sorprendentemente, que los granulados enzimáticos conteniendo fitasa(s) tienen entonces una estabilidad de pelletizado especialmente buena, cuando se trate de granulados recubiertos, cuyas partículas contengan, además de al menos un recubrimiento, un núcleo conteniendo fitasa, que comprenda material portador sólido apropiado para los piensos para animales y cuyos núcleos de las partículas o las partículas completas, tras una molienda eventualmente necesaria, al suspenderlas o disolverlas en agua totalmente desalinizada a 25°C, ofrezcan un valor del pH en el rango de 4,5 a 6,5, preferentemente de 4,6 a 6,0 y de manera especialmente preferente de 4,7 a 5,5.

15 La presente invención se relaciona correspondientemente con un granulado enzimático conteniendo fitasa para alimentos para animales, cuyas partículas tengan

A) un núcleo, que comprenda al menos una fitasa y al menos un material portador sólido apropiado para los alimentos para animales, y

20 b) un recubrimiento dispuesto sobre el núcleo, que consista en al menos un 90% en peso de sustancias hidrófobas insolubles en agua, siendo la proporción de carbono y hidrógeno de al menos el 80% en peso de las sustancias hidrófobas,

obteniéndose por resultado los núcleos de las partículas o las partículas completas, tras una molienda eventualmente necesaria, al suspenderlas o disolverlas en agua totalmente desalinizada a 25°C, un valor del pH en el rango de 4,5 a 6,5, preferentemente de 4,6 a 6,0 y de manera especialmente preferente de 4,7 a 5,5.

25 Los granulados enzimáticos conformes a la invención se caracterizan por una estabilidad especialmente alta, particularmente por una estabilidad de pelletizado especialmente alta y pueden elaborarse de manera sencilla, siendo la pérdida de actividad enzimática durante la elaboración comparable a la pérdida de actividad enzimática en procedimientos comparables del estado de la técnica. La presente invención se relaciona correspondientemente también con el procedimiento de elaboración aquí descrito y con el empleo de los granulados enzimáticos conformes a la invención en composiciones de alimentos para animales, especialmente en composiciones pelletizadas de piensos animales.

30 Las partículas de granulado conteniendo fitasa de los granulados enzimáticos conformes a la invención tienen un núcleo y al menos un recubrimiento hidrófobo dispuesto sobre la superficie del núcleo, comprendiendo el núcleo al menos una fitasa y al menos un material portador sólido apropiado para los alimentos para animales.

35 Conforme a la invención, los núcleos de las partículas o las partículas completas ofrecen, tras una molienda eventualmente necesaria, al suspenderlos o disolverlos en agua totalmente desalinizada a 25°C, un valor del pH en el rango de 4,5 a 6,5, preferentemente de 4,6 a 6,0 y de manera especialmente preferente de 4,7 a 5,5. Para la determinación del valor del pH se disuelven 5 g de núcleos no recubiertos o recubiertos, a 25°C en 200 ml de agua desionizada y se determina el valor del pH ajustado tras 30 min. con un electrodo de cristal y/o con un instrumento de medición del valor del pH.

40 Conforme a un modo de ejecución preferente de la invención, las sustancias que conforman el núcleo contienen, además de la fitasa y el material portador sólido, al menos un agente para el ajuste de un valor del pH de 4,5 a 6,5, preferentemente de 4,6 a 6,0 y de manera especialmente preferente de 4,7 a 5,5, por ejemplo, un tampón o una base, esta última particularmente cuando los materiales que forman el núcleo tengan, a su vez, grupos ácidos.

45 Las sustancias apropiadas para el ajuste del valor del pH son de sobra conocidas para el experto, por ejemplo, a partir de Küster-Tiel, Baremos para la Analítica Química, 102ª Edición, 1982, Ed. Walter de Gruyter y Manual de Química y Física, 76ª Ed. 1995-1996, CRS Press 8-38 y siguientes.; libreta de normas DIN 22, directrices para la medición del pH en instalaciones industriales, Berlín: Beut 1974; DIN 19266 (Ag. 1979); DIN 19267 (Ag. 1978); Ciencias Naturales 65, 438. (1978). Contactos (Merck) 1981, nº 1,37-43.

50 Son ejemplos de tampones apropiados: acetato, propionato, tartrato, hidrogenocarbonato, ftalato, hidrogenoftalato, particularmente las sales sódicas, potásicas o cálcicas de las sustancias citadas anteriormente, incluyendo sus

hidratos o dihidratos, tampones fosfatados, fosfato potásico o sódico, sus hidratos o dihidratos, carbonato sódico o potásico. Ejemplos de bases apropiadas son carbonato sódico o potásico, hidróxido sódico, potásico, cálcico, magnésico o amónico y/o agua amoniacal o sus óxidos.

5 La proporción de tampón y/o base se encuentra típicamente en el rango del 0,1 al 5% en peso, relativo al peso total de los componentes no acuosos que conforman el núcleo. Esencialmente no tiene que realizarse ninguna adición del tampón, cuando los componentes del material del núcleo en la composición presente en el núcleo ofrezcan ya un valor del pH tal. Se ha probado particularmente un material del núcleo, obtenible por un procedimiento, en el que para la elaboración del núcleo se emplea un concentrado enzimático acuoso, que tenga a 25°C un valor del pH en el
10 del pH del concentrado enzimático se determina directamente con un electrodo de cristal y/o con un instrumento de medición del valor del pH.

Además, el material conforme a la invención que forma el núcleo contiene al menos un material portador sólido apropiado para piensos de animales. El material portador asciende típicamente a al menos un 50% en peso, particularmente a al menos un 55% en peso y, a menudo, a al menos el 60% en peso de los componentes no acuosos del material del núcleo, por ejemplo, del 50 al 96,9% en peso, preferentemente del 55 al 94,8% en peso y
15 particularmente del 60 al 89,7% en peso, relativo a los componentes no acuosos del núcleo.

Como idóneos para alimentos para animales materiales portadores se pueden utilizar soportes inorgánicos u orgánicos inertes habituales. Un soporte "inerte" no puede tener ninguna interacción negativa con la(s) enzima(s) del aditivo para piensos animales conforme a la invención, como por ejemplo originar una inhibición irreversible de la actividad enzimática, y tiene que ser inofensivo para el empleo como auxiliar en aditivos para piensos animales. Como ejemplos de materiales portadores apropiados han de citarse: los compuestos orgánicos de bajo peso molecular o de alto peso molecular de origen natural o sintético, así como las sales inorgánicas inertes. Se prefieren los materiales portadores orgánicos. Entre estos se prefieren especialmente los hidratos de carbono.

Ejemplos de soportes orgánicos de bajo peso molecular apropiados son particularmente los azúcares, como por ejemplo: glucosa, fructosa, sacarosa. Como ejemplos de soportes orgánicos de alto peso molecular son polímeros de hidrato de carbono han de citarse, particularmente aquellos, que contengan α -D-glucopiranosas, amilosa o unidades de amilopectina, particularmente los almidones nativos y modificados, celulosa microcristalina aunque también los α -glucanos y β -glucanos, pectina (incluyendo protopectina) y glucógeno. El material portador comprende preferentemente al menos un hidrato de carbono polimérico insoluble en agua, particularmente un material almidónico nativo, como particularmente los almidones de maíz, arroz, trigo, papa, almidones de otras fuentes vegetales como el almidón de la tapioca, yuca, sagú, centeno, avena, cebada de abanico, patata dulce, arruruz y similares, además de harinas de cereales, como por ejemplo las de maíz, trigo, centeno, cebada de abanico y avena, así como de arroz. Son también particularmente apropiadas las mezclas de los materiales portadores citados anteriormente, particularmente las mezclas, que comprendan principalmente, es decir, hasta al menos un 50% en peso, relativo al material portador, uno o varios materiales almidónicos. Los hidratos de carbono insolubles en agua ascienden preferentemente a al menos un 50% en peso, particularmente a al menos un 65% en peso y especialmente a al menos un 80% en peso del material portador. Son materiales portadores especialmente preferentes los almidones, que no contengan más del 5% en peso y particularmente no más del 2% en peso de proteínas u otros componentes. Otro material portador preferente es la celulosa microcristalina. Ésta puede utilizarse en solitario o en mezcla con los materiales portadores citados anteriormente. Si la celulosa microcristalina se usara mezclada con otros materiales portadores, no ascendería preferentemente a más del 50% en peso, particularmente del 30% en peso, por ejemplo, del 1 al 50% en peso, particularmente del 1 al 30% en peso y especialmente del 1 al 10% en peso, del material portador.

Como materiales portadores inorgánicos entran en consideración esencialmente todos los materiales portadores inorgánicos conocidos para los piensos para animales y sus aditivos, por ejemplo, las sales inorgánicas inertes, por ejemplo, sulfatos o carbonatos de los metales alcalinos y alcalino-térreos como los sulfatos o carbonatos sódicos, magnésicos, cálcicos y potásicos, además de los silicatos compatibles con los alimentos para animales como el talco y los ácidos silícicos. La proporción de material portador inorgánico, relativo a la cantidad total de material portador, no superará generalmente el 50% en peso, especialmente el 35% en peso y muy especialmente el 20% en peso. En un modo de ejecución preferente, los materiales portadores orgánicos suman la totalidad o casi, es decir, al menos un 95% en peso del material portador.

Además, el núcleo enzimático contiene al menos una fitasa, pudiendo encontrarse también mezclas de diferentes fitasas o mezclas de fitasa con una o varias otras enzimas. Son enzimas típicas para alimentos para animales, además de la fitasa, por ejemplo, las oxidoreductasas, transferasas, liasas, isomerasas, ligasas, lipasas y particularmente las hidrolasas diferentes de la fitasa. Son ejemplos de hidrolasas, es decir, de enzimas, que originen una descomposición hidrolítica de los enlaces químicos, las esterasas, glucosidasas, queratinasas, éter-hidrolasas, proteasas, amidasas, aminidasas, nitrilasas y fosfatasas. Las glucosidasas (EC 3.2.1, designadas también carbohidrasas) abarcan tanto las endo- como también las exo-glucosidasas, que descompongan los enlaces tanto α - como también β -glicosídicos. Ejemplos típicos de éstas/ son las amilasas, maltasas, celulasas, endo-xilanasas,

como por ejemplo la endo-1,4-β-xilanasasa o xilan-endo-1,3-β-xilosidasa, β-glucanasas, particularmente las endo-1,4-β- y endo-1,3-β-glucanasas, mananasas, lisozimas, galactosidasas, pectinasas, β-glucuronidasas y similares.

5 La expresión "fitasa" comprende tanto las fitasas naturales como también cualquier otra enzima, que tenga la actividad de la fitasa; por ejemplo, que sea capaz de catalizar una reacción, por la que se libere fósforo y/o fosfato de los fosfatos de mio-inositol. En el caso de la fitasa puede tratarse de una 3-fitasa (EC 3.1.3.8) como también de una 4- o 6-fitasa (EC 3.1.3.26) o de una 5-fitasa (EC 3.1.3.72) o de una mezcla de las mismas. La fitasa pertenecerá preferentemente a la clase de enzimas EC 3.1.3.8.

10 La fitasa usada conforme a la invención no está sujeta a ninguna limitación y puede ser tanto de origen microbiológico como también una fitasa obtenida por modificación genética de una fitasa presente en la naturaleza o una obtenida por construcción "de-novo". La fitasa puede ser una fitasa vegetal, fúngica, bacteriana o producida por levaduras. Se prefieren las fitasas de origen microbiológico como las bacterias, levaduras u hongos. También pueden ser de origen vegetal. En un modo de ejecución preferente se trata de una fitasa de una variedad de hongo, particularmente de una variedad de Aspergillus, por ejemplo, Aspergillus niger, Aspergillus oryzae, Aspergillus ficuum, Aspergillus awamori, Aspergillus fumigatus, Aspergillus nidulans o Aspergillus terreus. Se prefieren especialmente las fitasas derivadas de una variedad de Aspergillus niger o de una variedad de Aspergillus oryzae. 15 En otro modo de ejecución preferente, la fitasa deriva de una variedad de bacterias, particularmente una variedad de Bacillus, una variedad de E. coli o una variedad de Pseudomonas, prefiriéndose de entre estas fitasas las que derivan de una variedad de Bacillus-Subtilis. En otro modo de ejecución preferente, la fitasa deriva de una levadura, particularmente de una variedad de Kluyveromyces o de Saccharomyces-, prefiriéndose de entre estas fitasas las que derivan de una variedad de Saccharomyces cerevisiae. En esta invención, la expresión "una enzima derivada de la fitasa" abarca las fitasas producidas naturalmente a partir de la respectiva variedad o codificadas por una secuencia de ADN aislada a partir de la variedad y producida por un microorganismo, transformado con esta secuencia de ADN. La fitasa puede obtenerse a partir del respectivo microorganismo por técnicas conocidas, que comprenden típicamente la fermentación del microorganismo productor de la fitasa en un alimento apropiado (véase, por ejemplo, 20 el catálogo ATCC) y la posterior obtención de la fitasa a partir del medio de fermentación por técnicas estándar. ejemplos de fitasas así como de procedimientos para la elaboración y aislamiento de fitasas se encuentran en la EP-A 420358, EP-A 684313, EP-A 897010, EP-A 897985, EP-A 10420358, WO 94/03072, WO 98/54980, WO 98/55599, WO 99/49022, WO 00/43503, WO 03/102174, a cuya revelación se hace referencia expresa con esto.

30 La proporción de fitasa en el núcleo se rige conforme a la naturaleza por la deseada actividad del granulado enzimático y la actividad de la enzima utilizada y se encuentra típicamente en el rango del 3 al 49,9% en peso, a menudo en el rango del 5 al 49,7% en peso particularmente en el rango del 10 al 44,5% en peso y especialmente en el rango del 10 al 39% en peso, contabilizada como masa seca y relativa al peso total de todos los componentes no acuosos del material del núcleo.

35 En un modo de ejecución preferente, abarcar/contener/rodear/integrar/envolver los componentes que conforman el núcleo abarcan, además del material portador idóneo para piensos para animales, al menos un polímero hidrosoluble. Este polímero actúa como aglutinante y eleva simultáneamente la estabilidad de pelletizado. Los polímeros hidrosolubles preferentes tienen un peso molecular medio en el rango de 5×10^3 a 5×10^6 Dalton, particularmente en el rango de 1×10^4 a 10^6 Dalton. Los polímeros valen como hidrosolubles, cuando puedan disolverse totalmente al menos 3 g de polímero en 1 litro de agua a 20°C.

40 A los polímeros hidrosolubles empleados conforme a la invención pertenecen:

45 - polisacáridos, por ejemplo, los almidones modificados hidrosolubles con propiedades generalmente adhesivas, por ejemplo, los productos de descomposición del almidón (dextrinas) como las dextrinas ácidas, Röst-dextrinas, hidrolizado enzimático parcial (dextrinas límite), almidones oxidativamente reducidos y sus productos de reacción de dextrinas con polímeros catiónicos o aniónicos, productos de reacción de dextrinas con anhídrido de octenilsuccinato (OSA), engrudo de almidón, además quitina, quitosano, carrageno, alginatos, sales del ácido arábico, gomas, por ejemplo, goma arábiga, traganto, goma karaya; goma xantana y goma gellan; galactomanana; derivados de celulosa hidrosolubles, por ejemplo, metilcelulosa, etilcelulosa y hidroxialquilcelulosas como por ejemplo hidroxietilcelulosa (HEC), hidroxietilmetilcelulosa (HEMC), etilhidroxietilcelulosa (EHEC), hidroxipropilcelulosa (HPC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y hidroxibutilcelulosa, así como carboximetilcelulosa (CMC);

50 - proteínas hidrosolubles, por ejemplo, proteínas de origen animal como gelatina, caseína, particularmente caseinato sódico y proteínas vegetales, como proteína de soja, proteína de guisante, proteína de semillas, proteína de colza, proteína de girasol, proteína de semillas de algodón, proteína de patata, altramuz, zein, proteína de trigo, proteína de maíz y proteína de arroz, -

55 - Polímeros sintéticos, por ejemplo, polietilenglicol, alcohol polivinílico y particularmente las marcas de colidón del Fab. BASF, copolímeros alcohol vinílico-éster vinílico, homo- y copolímeros de la vinilpirrolidona con acetato de vinilo y/o C₁- C₄-acrilatos alquílicos, -

- y eventualmente biopolímeros modificados, por ejemplo, lignina o poliláctido.

Los polímeros hidrosolubles preferentes son neutros, es decir, no tienen ningún grupo ácido o básico. Entre estos se prefieren especialmente los alcoholes de polivinilo, incluyendo acetatos de polivinilo parcialmente saponificados con un grado de saponificación de al menos un 80% así como particularmente hidrosolubles, éteres de celulosa neutros como metilcelulosa, etilcelulosa y hidroxialquilcelulosas como por ejemplo hidroxietilcelulosa (HEC), hidroxietilmetilcelulosa (HEMC), etilhidroxietilcelulosa (EHEC), hidroxipropilcelulosa (HPC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y hidroxibutilcelulosa.

En un modo de ejecución preferente de la invención el polímero hidrosoluble se selecciona entre los éteres de celulosa neutros. ejemplos de éteres de celulosa neutros hidrosolubles preferentes conforme a la invención son metilcelulosa, etilcelulosa e hidroxialquilcelulosas, por ejemplo, hidroxietilcelulosa (HEC), hidroxietilmetilcelulosa (HEMC), etilhidroxietilcelulosa (EHEC), hidroxipropilcelulosa (HPC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) e hidroxibutilcelulosa. Entre estos se prefieren especialmente la metilcelulosa, etilcelulosa y éteres mixtos de celulosa con grupos metilo o grupos etilo y como HEMC, EHEC y HPMC. Los éteres de celulosa metil- o etil-sustituidos preferentes tienen un grado de sustitución DS (relativo a los grupos alquílicos) en el rango de 0,8 a 2,2 y en el caso de los éteres mixtos de celulosa un grado de sustitución DS relativo a los grupos alquílicos en el rango de 0,5 a 2,0 y un grado de sustitución HS relativo a los grupos hidroxialquílicos en el rango de 0,02 a 1,0.

La proporción de polímeros hidrosolubles se encuentra preferentemente del 0,2 al 10% en peso, particularmente del 0,3 al 5% en peso y especialmente del 0,5 al 13% en peso, relativo a los componentes no acuosos que forman la pasta y es correspondientemente en estas concentraciones componente del granulado bruto conteniendo enzima(s).

El material que forma el núcleo puede contener además adicionalmente una sal estabilizadora de la enzima. Las sales estabilizadoras son típicamente sales de cationes de valencia 2, particularmente sales del calcio, magnesio o del zinc, así como sales de cationes de valencia 1, particularmente del sodio o del potasio, por ejemplo, los sulfatos, carbonatos, hidrogenocarbonatos y los fosfatos incluyendo hidrogenofosfatos y hidrogenofosfatos amónicos de estos metales. Las sales preferentes son los sulfatos. Se prefieren especialmente los sulfatos de magnesio y de zinc, incluyendo sus hidratos. La proporción de sal se encuentra preferentemente del 0,1 al 10% en peso, particularmente del 0,2 al 5% en peso, y especialmente en el rango del 0,3 al 3% en peso, relativo al peso total de todos los componentes no acuosos del material del núcleo.

Las partículas de los granulados enzimáticos conformes a la invención tienen, aparte de esto, al menos un recubrimiento dispuesto sobre el núcleo de las partículas. El recubrimiento cubrirá la superficie del núcleo preferentemente hasta al menos un 80% (valor medio) y particularmente del todo (100%).

La razón en peso de núcleo a recubrimiento se encuentra generalmente en el rango de 70:30 a 99:1, preferentemente de 75:25 a 98:2, particularmente en el rango de 80:20 a 96:4 y especialmente en el rango de 85:15 a 95:5.

Son apropiados los recubrimientos hidrófobos, es decir, recubrimientos, cuyos componentes no sean hidrosolubles o sólo de manera limitada. La invención se relaciona correspondientemente con granulados enzimáticos conteniendo fitasa(s), cuyas partículas tengan un recubrimiento consistente en al menos un 90% en peso de sustancias hidrófobas insolubles en agua.

Como materiales hidrófobos entran en consideración para el recubrimiento hidrófobo tanto sustancias poliméricas como también oligoméricas o de bajo peso molecular.

Conforme a la invención, los materiales hidrófobos tienen una alta proporción de hidrocarburos, ascendiendo la proporción de carbono e hidrógeno a al menos un 80% en peso, particularmente a al menos el 85% en peso del material hidrófobo. Se prefieren aquellas sustancias, que tengan un punto de fusión superior a 30°C, preferentemente superior a 40°C, particularmente superior a 45°C y especialmente superior a 50°C tienen, y/o, en el caso de sustancias no fusibles, que sean sólidas a estas temperaturas o tengan una temperatura de transición vítrea superior a estas temperaturas. Se prefieren los materiales hidrófobos con puntos de fusión en el rango de 40 a 95°C, particularmente de 45 a 80 °C, y de manera especialmente preferente de 50 a 70°C.

El material hidrófobo es preferentemente pobre en ácidos y tiene un número ácido inferior a 80, particularmente inferior a 30 y especialmente inferior a 10 (determinado según la ISO-660). Ejemplos de materiales hidrófobos apropiados conforme a la invención son: -

- Poliolefinas como polietileno, polipropileno y polibutenos; -

- Ácidos grasos saturados con preferentemente de 10 a 32 átomos de carbono, a menudo de 12 a 24 átomos de carbono y particularmente de 16 a 22 átomos de carbono; -

5 - Ésteres de ácidos grasos saturados, preferentemente mono-, di- y triglicéridos, así como ésteres de ácidos grasos saturados con alcoholes grasos. Los alcoholes grasos tienen, por ejemplo, de 10 a 32 átomos de carbono, particularmente de 16 a 24 átomos de carbono, como alcohol cetílico o alcohol esteárico. los ácidos grasos y/o los radicales ácido graso en los ésteres de ácido graso tienen preferentemente de 10 a 32, a menudo de 12 a 24 y particularmente de 16 a 22 átomos de carbono; -

- Ceras, particularmente ceras vegetales y ceras de origen animal, aunque también ceras montanas y ceras de ésteres de Montana; -

- Acetatos de polivinilo; -

10 - Polímeros y -copolímeros de (met)acrilato C1-C10-alquílico, preferentemente aquellos con un peso molecular medio en número de aproximadamente 100000 a 1000000; particularmente copolímeros de acrilato de etilo/metacrilato de metilo y copolímeros de acrilato de metilo/acrilato de etilo

15 En un modo de ejecución preferente, el material que conforma el recubrimiento consiste en hasta al menos un 70% en peso, especialmente hasta al menos un 80% en peso, particularmente hasta al menos un 90% en peso de al menos una sustancia seleccionada entre ácidos grasos saturados, ésteres de ácido graso y sus mezclas, prefiriéndose los ésteres de ácido graso y particularmente los triglicéridos.

Saturado significa, que el material hidrófobo está esencialmente libre de componentes insaturados y tiene correspondientemente un número de yodo inferior a 5 y particularmente inferior a 2 (método según Wijs, DIN 53 241).

20 El recubrimiento consiste de manera particularmente preferente en hasta al menos un 70% en peso, particularmente al menos un 80% en peso y especialmente al menos un 90% en peso de los triglicéridos citados anteriormente.

25 En un modo de ejecución preferente de la invención, el agente de recubrimiento contiene principalmente, es decir, hasta al menos un 70% en peso, particularmente al menos 80% en peso y especialmente más del 90% en peso de aceites vegetales hidratados, particularmente triglicéridos de origen vegetal, por ejemplo, los aceites hidratados de semillas de algodón, maíz, cacahuete, semillas de soja, palma, nuez de palma, babassu-, colza-, girasol- y azafranillo. Entre estos, son aceites vegetales hidratados especialmente preferentes los aceites hidratados de palma, de semillas de algodón y de semillas de soja. El aceite vegetal hidratado más preferente es el aceite hidratado de semillas de soja. Del mismo modo, resultan también apropiadas otras grasas y ceras procedentes de plantas y animales, por ejemplo, la grasa de sebo vacuno. Son también apropiadas las grasas y ceras de naturaleza idéntica, es decir, sintéticas con una composición, que corresponda principalmente a la de los productos naturales.

30 La siguiente Tabla nombra algunos ejemplos de materiales de recubrimiento apropiados conforme a la invención:

Denominación	Composición	Intervalo de fusión	Nº CAS/INCI
Cutina CP de Cognis	palmitato cetílico sintético	46 - 51 °C	95912-87-1/Cetyl Palmitate
Edenor NHTI-G de Cognis	triglicérido	56 - 60 °C	67701-27-3*
Edenor NHTI-V de Cognis	triglicérido	57 - 60 °C	67701-27-3* EINECS 266-945-8
Edenor C1892 de Cognis	ácido esteárico, C ₁₆₋₁₈	66 - 99 °C	
Edenor HPA de Cognis	ácidos grasos, aceite de palma, hidratado, C ₁₆₋₁₈	55 - 57 °C	

(continuación)

Denominación	Composición	Intervalo de fusión	Nº CAS/INCI
Edenor HRAGW de Cognis	ácidos grasos, C 16 -22	64 - 66 °C	
Edenor C2285R de Cognis	ácidos grasos, C18 - 22	75 - 78 °C	68002-88-0*
Rilanit de Cognis	triglicérido	83 - 90 °C	
restitución de cera de Japón de refinería de ceras Kahl	principalmente éster glicérico de ácido palmítico	49 - 55 °C	rhus succedanea
Tefacid de Karlshamns	aceite de núcleo de palma Tefacid Palmic 90	65 °C	57-10-3
polvo de grasa de soja de Sankyu/Japón		65 - 70 °C	

5 Aparte de estos, resultan apropiados los productos comercializados con la denominación comercial Vegeol PR del Fab. Aarhus Olie, DK, por ejemplo, Vegeol® PR 267, PR 272, PR 273, PR 274, PR 275, PR 276, PR 277, PR 278 y PR 279.

10 Como ceras son particularmente apropiadas las ceras de origen animal como las ceras de abejas y de lana, las ceras de origen vegetal como las de candelilla, carnauba, azúcar de caña, carandaí, rafia, Columbia, esparto, alfalfa, bambú, cáñamo, abeto Douglas, corcho, sisal, cera flax, de algodón, cera damar, de cereal, de arroz, de ocotillo, de adelfa, ceras montanas, ceras de ésteres de Montana, de polietileno, aparte de los productos comercializados con la denominación comercial Wükonil, Südranol, Lubranil o Mikronyl del Fab. Süddeutsche Emulsions-Chemie, o los productos con los nombres comerciales Poligen WE1, WE3, WE4, WE6, WE7, WE8 BW, WE9 de BASF, como material de recubrimiento.

Son materiales hidrófobos de recubrimiento, aparte de estos, las siguientes poliolefinas: poliisopreno, poliisobuteno de peso molecular alto y medio y polibutadieno.

15 En los polímeros y copolímeros preferidos de (met)acrilato alquílico, el grupo alquílico muestra de 1 a 4 átomos de carbono. Como ejemplos concretos de copolímeros apropiados han de citarse: copolímeros de acrilato de etilo/metacrilato de metilo, comercializados, por ejemplo, con los nombres comerciales Kollicoat EMM 30D de BASF AG o con el nombre comercial Eudragit NE 30 D del Fab. Degussa; así como copolímeros de metacrilato/acrilato de etilo, como los comercializados, por ejemplo, con el nombre comercial Kollicoat MAE 30DP de BASF AG o con el nombre comercial Eudragit 30/55 del Fab. Degussa en forma de dispersión acuosa.

20 Como ejemplos de dispersiones de acetato de polivinilo han de citarse aquellas, estabilizadas con polivinilpirrolidona y comercializadas, por ejemplo, con el nombre comercial Kollicoat SR 30D de BASF AG (contenido en sólidos de la dispersión: aproximadamente del 20 al 30% en peso).

25 En otro modo de ejecución, el recubrimiento comprende sustancias poliméricas, que tengan una hidrosolubilidad al menos limitada. Ejemplos de éstas son

a) polialquilenglicoles, particularmente polietilenglicoles, preferentemente aquellos con un peso molecular medio en número de aproximadamente 400 a 15 000, como por ejemplo de aproximadamente 400 a 10000;

30 b) polímeros de óxido de polialquileo o -copolímeros, preferentemente aquellos con un peso molecular medio en número de aproximadamente 4000 a 20000, como por ejemplo de aproximadamente 7700 a 14600; particularmente copolímeros en bloque de polioxietileno y polioxipropileno;

c) polivinilpirrolidona, preferentemente con un peso molecular medio en número de aproximadamente 7 000 a 100000, como por ejemplo de aproximadamente 44000 a 54000;

d) copolímeros de vinilpirrolidona/acetato de vinilo, preferentemente aquellos con un peso molecular medio en número de aproximadamente 30000 a 100000, como por ejemplo de aproximadamente 45 000 a 70000;

- e) alcoholes polivinílicos, preferentemente aquellos con un peso molecular medio en número de aproximadamente 10000 a 200000, como por ejemplo de aproximadamente 20000 a 100000;
- f) Celulosas modificadas y/o derivados de celulosa, como por ejemplo hidroxipropilmetilcelulosa, preferentemente con un peso molecular medio en número de aproximadamente 6 000 a 80000, como por ejemplo de aproximadamente 12 000 a 65 000; aunque también metilcelulosa, etilcelulosa e hidroxialquilcelulosas como por ejemplo hidroxietilcelulosa (HEC), hidroxietilmetilcelulosa (HEMC), etilhidroxietilcelulosa (EHEC), hidroxipropilcelulosa (HPC) y
- g) copolímeros de injerto de alcohol polivinílico-polietilenglicol;
- h) almidones modificados (por ejemplo, productos de reacción de anhídrido de octenilsuccinato (OSA) y almidón).
- 10 Como ejemplos de polialquilenglicoles a) apropiados han de citarse: polipropilenglicoles y particularmente polietilenglicoles de diferentes masas molares, como por ejemplo PEG 4000 ó PEG 6000, comercializados por BASF AG con los nombres comerciales Lutrol® E-4000 y Lutrol® E 6000 así como las marcas de colidón del Fab. BASF.
- 15 Como ejemplos de los polímeros b) arriba indicados han de citarse: los óxidos de polietileno y de polipropileno, los copolímeros mixtos o en bloque de óxido de etileno/óxido de propileno, constituidos por bloques de óxido de polietileno- y óxido de polipropileno, como por ejemplo los polímeros comercializados por BASF AG con el nombre comercial Lutrol® F68 y Lutrol® F127.
- Como ejemplos de los polímeros c) arriba indicados han de citarse: polivinilpirrolidonas, como las comercializadas, por ejemplo, por BASF AG con el nombre comercial Kollidon® o Luviskol®.
- 20 Como ejemplos de los polímeros d) arriba indicados ha de citarse: un copolímero de vinilpirrolidona/acetato de vinilo, comercializado por BASF AG con el nombre comercial Kollidon® VA64.
- Como ejemplos de los polímeros e) arriba indicados han de citarse: productos, como los comercializados, por ejemplo, por el Fab. Clariant con el nombre comercial Mowiol®.
- Como ejemplos de polímeros f) apropiados han de citarse: hidroxipropilmetilcelulosas, como las comercializadas, por ejemplo, por Shin Etsu con el nombre comercial Pharmacoat®.
- 25 Son ejemplos de polímeros g) los productos comercializados por BASF AG con el nombre comercial Kollicoat® IR.
- Se sabe que los granulados enzimáticos conformes a la invención pueden tener, además del recubrimiento hidrófobo, también uno o varios, por ejemplo, 1, 2 o 3 recubrimientos adicionales, que consistan en otros materiales; por ejemplo, los recubrimientos mostrados en el estado actual de la técnica. Resulta fundamental para la invención que al menos un recubrimiento consista en los materiales hidrófobos, pudiendo disponerse esta capa arbitrariamente y particularmente de forma directa sobre el núcleo conteniendo enzima(s). Existe además la posibilidad de que por lo menos una capa sea una capa de sal o una capa, que consista, por lo menos en un 30% de sal. Además, una capa de sal de este tipo se dispone preferentemente entre el núcleo y la capa externa. Las sales citadas anteriormente pueden nombrarse aquí como ejemplo.
- 30
- Los granulados enzimáticos conformes a la invención se pueden elaborar de modo análogo a los procedimientos de elaboración conocidos para granulados enzimáticos recubiertos; por ejemplo, de modo análogo a los procedimientos descritos en la WO 01/00042, WO 03/059086 o PCT/EP 2005/000826.
- 35
- Los granulados enzimáticos conformes a la invención tienen más favorablemente un tamaño medio de partícula (diámetro de partícula) en el rango de 100 a 2000 µm, particularmente en el rango de 200 a 1500 µm y especialmente en el rango de 300 a 1000 µm. La geometría de las partículas de granulado es generalmente cilíndrica, con una razón de diámetro a longitud de aproximadamente 1:1,3 a 1:3 y con extremos eventualmente redondeados. Los tamaños de partícula de los granulados enzimáticos recubiertos conforme a la invención corresponden típicamente a las de los núcleos no recubiertos, designados en lo sucesivo también como granulados brutos; es decir, la razón de diámetro medio de partícula del granulado conforme a la invención al diámetro medio de partícula del granulado bruto no superará generalmente un valor de 1,1:1 y particularmente de 1,09:1.
- 40
- Los granulados enzimáticos conteniendo fitasa(s) conformes a la invención I tienen preferentemente una actividad de la fitasa en el rango de 1×10^3 a 1×10^5 FTU, particularmente de 5×10^3 a 5×10^4 FTU, y especialmente de 1×10^4 a 3×10^4 FTU. 1 FTU de actividad de la fitasa se define además como la proporción de enzima, que libera 1 micromol de fosfato inorgánico por minuto de 0.0051 mol/l de fitato sódico acuoso a pH 5,5 y 37°C. La determinación de la actividad de la fitasa puede efectuarse, por ejemplo, conforme a "Determination of Phytase Activity in Feed by a Colorimetric Enzymatic Method": Collaborative Interlaboratory Study Engelen et al.: Journal of AOAC International
- 45
- 50

Vol. 84, No. 3, 2001, o también Simple and Rapid Determination of fitasa Activity, Engelen et al., Journal of AOAC International, Vol. 77, No. 3, 1994.

5 Los granulados enzimáticos conformes a la invención se pueden elaborar de modo análogo a los procedimientos de elaboración conocidos para granulados enzimáticos recubiertos; por ejemplo, de modo análogo a los procedimientos descritos en la WO 01/00042, WO 03/059086 o PCT/EP 2005/000826.

Conforme a un modo de ejecución preferente, el procedimiento comprende los siguientes pasos:

Procedimiento para la elaboración de granulados enzimáticos sólidos conteniendo fitasa según al menos una de las reivindicaciones 1 a 12, comprendiendo los siguientes pasos:

10 a) preparación de un granulado bruto conteniendo fitasa no recubierto, que comprenda al menos una fitasa y al menos un material portador sólido apropiado para los alimentos para animales y que, al suspenderlo o disolverlo, tras la molienda eventualmente necesaria, en agua a 25°C, proporcione un valor del pH en el rango de 4,5 a 6,5, preferentemente de 4,6 a 6,0 y de manera especialmente preferente de 4,7 a 5,5, y que tenga generalmente un contenido en agua inferior al 15% en peso, a menudo en el rango del 1 al 12% en peso, particularmente del 3 al 10% en peso y especialmente del 5 al 9% en peso, relativo al peso del granulado bruto conteniendo enzima(s), y

15 b) recubrimiento del granulado bruto.

La elaboración del granulado bruto puede realizarse esencialmente de cualquier modo. Por ejemplo, puede procesarse una mezcla; comprendiendo el portador compatible con los alimentos para animales, al menos un derivado de la celulosa neutro hidrosoluble y al menos una enzima y eventualmente otros componentes como agua, tampón, sales metálicas estabilizadoras, por extrusión, granulación en mezclador, granulación en lecho fluidizado, 20 aglomeración en plato o compactado de manera conocida para dar un granulado bruto.

En un modo de ejecución preferente, la elaboración del granulado bruto comprende en un primer paso la extrusión de una pasta acuosa, que contenga al menos un derivado de la celulosa neutro hidrosoluble y al menos una enzima y eventualmente otros componentes como agua, tampón, sales metálicas estabilizadoras en las concentraciones antes indicadas. La elaboración de la pasta abarca generalmente un ajuste del valor del pH, de forma que la pasta 25 tenga, al suspenderla en agua, un valor del pH en el rango de 4,5 a 6,5, preferentemente de 4,6 a 6,0 y de manera especialmente preferente de 4,7 a 5,5. El ajuste del valor del pH puede realizarse añadiendo un tampón o una base a la pasta. Preferentemente se lleva a cabo un ajuste del valor del pH de la pasta, de forma que se produzca la pasta utilizando un concentrado enzimático acuoso, cuyo valor del pH, al diluirla, se halle en el rango de 4,5 a 6,5, preferentemente de 4,6 a 6,0 y de manera especialmente preferente de 4,7 a 5,5. Como el concentrado enzimático 30 posee a menudo un valor del pH ligeramente ácido inferior a 4, se añadirá preferentemente un tampón o una base. Son bases apropiadas, además del amoníaco, agua amoniacal e hidróxido amónico, los hidróxidos, citratos, acetatos, formiatos, carbonatos e hidrogenocarbonatos de metales alcalinos y alcalino-térreos; así como las aminas y óxidos de metales alcalino-térreos como CaO y MgO. Son ejemplos de soluciones reguladoras inorgánicas los hidrogenofosfatos de metales alcalinos, particularmente los hidrogenofosfatos sódico y potásico; por ejemplo, 35 K₂HPO₄, KH₂PO₄ y Na₂HPO₄. Son agentes preferentes para el ajuste del valor del pH el amoníaco o agua amoniacal, NaOH, KOH. Son soluciones reguladoras apropiadas, por ejemplo, las mezclas de las bases citadas anteriormente con ácidos orgánicos como los ácidos acético, fórmico y cítrico.

El material portador asciende generalmente del 50 al 96,9% en peso, preferentemente del 55 al 94,8% en peso y particularmente del 60 al 89,7% en peso de los componentes no acuosos de la pasta. El, al menos uno, derivado de 40 la celulosa neutro hidrosoluble, asciende generalmente del 0,1 al 10% en peso, preferentemente del 0,15 al 5% en peso, particularmente del 0,2 al 2% en peso y especialmente del 0,3 al 1% en peso, de los componentes no acuosos de la pasta. La, al menos una, enzima asciende generalmente del 3 al 49,9% en peso, particularmente del 5 al 49,8% en peso y especialmente del 10 al 39,7% en peso de los componentes no acuosos de la pasta. La proporción de otros componentes corresponde a los porcentajes de concentración indicados anteriormente para la composición del núcleo. 45

Además de los componentes citados anteriormente, la pasta contiene agua en una proporción, que garantice una homogenización suficiente de los componentes que conforman la pasta y una consistencia suficiente (plastificación) de la pasta para la extrusión. La proporción de agua necesaria para ello puede determinarse de manera conocida por el experto en materia de formulación enzimática. La proporción de agua en la pasta se encuentra típicamente en 50 el rango de > 15 al 50% en peso, particularmente del 20 al 45% en peso y especialmente del 25 al 40% en peso, relativo al peso total de la pasta.

La elaboración de la pasta se lleva a cabo de manera conocida mezclando los componentes que conforman la pasta en un dispositivo de mezclado apropiado, por ejemplo, en un mezclador o amasadora convencionales. A tal efecto se mezcla(n) intensivamente el y/o los sólidos, por ejemplo, el material portador, con la fase líquida, por ejemplo

- agua, una disolución acuosa de aglutinante o un concentrado enzimático acuoso. Generalmente se introduce el soporte como sólido en el mezclador y se mezcla con un concentrado enzimático acuoso, así como con el polímero hidrosoluble, preferentemente en forma de disolución acuosa independiente o disuelto en el concentrado enzimático acuoso, así como eventualmente con la sal estabilizadora, preferentemente forma de disolución o suspensión acuosa independiente, particularmente disuelta o suspendida en el concentrado enzimático acuoso. Eventualmente se añade agua adicional para el ajuste de la consistencia deseada de la pasta. Durante el mezclado no se supera preferentemente una temperatura de 60°C, particularmente de 40°C. La temperatura de la pasta durante el mezclado asciende de manera especialmente preferente a de 10 a 30°C. El dispositivo de mezclado refrigera, por consiguiente, eventualmente durante la elaboración de la pasta.
- La pasta así obtenida se somete a continuación a una extrusión, preferentemente a una extrusión a baja presión. La extrusión, particularmente la extrusión a baja presión, se lleva a cabo generalmente en un aparato, en el que se presiona la masa a extrusionar (pasta) con un molde. El diámetro de orificio del molde determina el diámetro de partícula y se encuentra generalmente en el rango de 0,3 a 2 mm y particularmente de 0,4 a 1,0 mm. Son extrusoras apropiadas, por ejemplo, las de bóveda o cesta, comercializadas, entre otros, por empresas como Fitzpatrick o Bepex. En el caso de la consistencia correcta de la masa a extrusionar, sólo se genera en este contexto un pequeño aumento de temperatura al pasar por el molde (a aprox. 20°C). La extrusión se lleva a cabo preferentemente con control de la temperatura, es decir, que la temperatura de la pasta no debería superar durante la extrusión una temperatura de 70°C, particularmente de 60°C. La temperatura de la pasta durante la extrusión se encuentra particularmente en el rango de 20 a 50°C.
- Los cordones de pasta extrusionados salientes de la extrusora se cortan en pequeñas partículas tipo granulado o pueden romperse eventualmente con ayuda de los dispositivos de corte apropiados. Las partículas de granulado así obtenidas tienen típicamente una distribución homogénea del tamaño de grano, es decir, una estrecha distribución del tamaño de grano.
- De este modo se obtiene un granulado bruto con un contenido en agua comparativamente alto, que asciende generalmente a más del 15% en peso, por ejemplo, del 15 al 50% en peso, particularmente del 20 al 45% en peso, relativo al peso total del granulado bruto húmedo. Conforme a la invención, por consiguiente, se seca antes de recubrirlo, de forma que su contenido en agua no valga más del 15% en peso y preferentemente del 1 al 12% en peso, particularmente del 3 al 10% en peso y especialmente del 5 al 9% en peso.
- La elaboración comprende correspondientemente, en general, un paso de secado. Éste se lleva a cabo preferentemente en un secador de lecho fluidizado. En este contexto se conduce un gas caliente, generalmente aire o una corriente de gas nitrógeno desde abajo a través de la capa de producto. La proporción de gas se ajusta habitualmente de forma que las partículas se fluidicen y formen remolinos. El agua se evapora con la transferencia de calor entre el gas y las partículas. Como los granulados brutos conteniendo enzima(s) son generalmente térmicamente estables, habrá que cuidar que la temperatura del granulado bruto no aumente demasiado, es decir, generalmente no por encima de 80°C y preferentemente de 70°C. La temperatura del granulado durante el secado se encuentra particularmente en el rango de 30 a 70°C. La temperatura de secado puede controlarse de manera sencilla a través de la temperatura de la corriente gaseosa. La temperatura de la corriente gaseosa se encuentra típicamente en el rango de 140 a 40°C y particularmente en el rango de 120 a 60°C. El secado puede llevarse a cabo de forma continua o discontinua.
- Después del secado puede fraccionarse el granulado aún por medio de un tamiz (opcionalmente). Los materiales grueso y fino pueden molerse y realimentarse al mezclador para moler la masa de granulado.
- Ha demostrado además ser favorable, redondear, es decir esferizar, el granulado bruto aún húmedo antes de realizar el secado. En este contexto se reduce particularmente la formación de polvo no deseado en el producto final.
- Son dispositivos apropiados para el redondeado de granulados brutos húmedos los llamados esferonizadores, que tienen esencialmente un disco horizontalmente rotatorio, sobre el que presiona la fuerza centrífuga a los cordones contra la pared. Los cordones se rompen en las microcestas predefinidas por el proceso de extrusión, de forma que se produzcan partículas cilíndricas con una relación de diámetro a longitud de aproximadamente 1:1,3 a 1:3. Mediante el esfuerzo mecánico en el esferonizador se redondean algo las primeras partículas cilíndricas.
- Los granulados brutos obtenidos tras la confección tienen más favorablemente un tamaño medio de partícula en el rango de 100 a 2000 µm, particularmente de 200 a 1500 µm y especialmente de 300 a 1000 µm. La distribución del tamaño medio de partícula puede determinarse de manera conocida por dispersión de luz, por ejemplo, con un Mastersizer S, del Fab. Malvern Instruments GmbH o mediante análisis en tamiz, por ejemplo, con una máquina de tamizado tipo Vibro VS 10000 del Fab. Retsch. El experto conoce por tamaño medio de partícula al llamado valor D₅₀ de la curva de distribución del tamaño de partícula, es decir, el valor por encima o por debajo del cual queda el 50% en peso de todas las partículas. Se prefieren los granulados brutos con una estrecha distribución del tamaño de partícula.

5 Conforme a otro modo de ejecución, la elaboración del granulado bruto se lleva a cabo mediante secado por atomizado, granulación por pulverizado, aglomeración por pulverizado, compactado, granulación en mezclador de alto corte o aparatos y procedimientos similares, en los que se registra una energía mecánica en forma de piezas desplazadas y/o el aporte de una corriente gaseosa y así se lleva a cabo la construcción de las partículas y/o la elaboración del granulado bruto.

10 Otra alternativa consiste también en la elaboración del granulado bruto por absorción. Aquí se pone en contacto el concentrado enzimático o una disolución enzimática con un material portador (mediante adición o atomizado de la disolución). Como materiales portadores entran en consideración los materiales portadores indicados anteriormente. En este procedimiento, la enzima difunde con el disolvente presente en la disolución, preferentemente agua, parcial o completamente en el material portador. El disolvente, preferentemente agua, puede eliminarse, a continuación o paralelamente, mediante un procedimiento térmico. Esto puede efectuarse, por ejemplo, en una capa fluidizada, un secador de lecho fluidizado u otros secadores.

15 A continuación, se recubre el granulado bruto así obtenido. Para ello se aplica de manera conocida uno de los materiales de recubrimiento citados anteriormente sobre el granulado bruto. La aplicación del material que conforma el recubrimiento puede realizarse de manera conocida aplicando una disolución, dispersión o suspensión del material que conforma el recubrimiento en un apropiado disolvente, por ejemplo, agua o aplicando una masa fundida del material. Conforme a la invención se prefiere la aplicación de una masa fundida, porque de este modo puede prescindirse de la posterior eliminación del disolvente o dispersante. Es decir, que para la aplicación de una masa fundida no es necesario el empleo de un secador/recubridor caro (por ejemplo, de un secador de lecho fluidizado), sino que el posible el uso de un mezclador. El recubrimiento con una masa fundida del material se denominará en lo sucesivo también como recubrimiento de fusión.

20 Los procedimientos apropiados de aplicación del recubrimiento abarcan el recubrimiento en una capa fluidizada y/o en lecho fluidizado, así como el recubrimiento en un mezclador (de manera continua o por lotes), por ejemplo, en un tambor de granulación, un mezclador de palas, por ejemplo, del Fab. Lödige, un mezclador de paletas, por ejemplo, de la empresa Forberg, un mezclador Nauta, un mezclador granulador, un secador granulador, un recubridor de vacío, por ejemplo, del Fab. Forberg o un granulador de alto corte.

El recubrimiento del granulado bruto se lleva a cabo particularmente

- 25 i) en una capa fluidizada y/o lecho fluidizado, por ejemplo, atomizando el granulado bruto con una masa fundida, una disolución o dispersión del material que conforma el recubrimiento; así como
- 30 ii) en uno de los dispositivos de mezclado citados anteriormente introduciendo el granulado bruto en una masa fundida del material que conforma el recubrimiento o pulverizando o rociando el granulado bruto con una masa fundida, una disolución o dispersión del material que conforma el recubrimiento.

35 El recubrimiento por atomizado del granulado bruto con una masa fundida, una disolución o dispersión en una capa fluidizada y/o lecho fluidizado se prefiere especialmente conforme a la invención. El atomizado del granulado bruto con una masa fundida, una disolución o dispersión del material en el aparato de capa fluidizada puede realizarse, en principio, por el procedimiento de atomizado por el fondo (el difusor descansa en el plato de incidencia y atomiza hacia arriba) o de atomizado por cabeza (el recubrimiento se pulveriza desde arriba en la capa fluidizada).

El recubrimiento del granulado bruto puede en el contexto del procedimiento conforme a la invención puede efectuarse de modo continuo o discontinuo.

40 Conforme a un primer modo de ejecución preferente del procedimiento conforme a la invención se carga previamente y fluidiza el granulado bruto en un lecho fluidizado y se recubre por atomizado de una dispersión acuosa o no acuosa, preferentemente acuosa, del material que conforma el recubrimiento con este material. A tal efecto se usa preferentemente un fluido lo más concentrado posible, aún atomizable, como por ejemplo una dispersión acuosa del 10 al 50% en peso o disolución o dispersión no acuosa del material.

45 El atomizado de la disolución o dispersión del material se realiza preferentemente cargando previamente el granulado bruto en un aparato de capa fluidizada o un mezclador y atomizando el recubrimiento con calentamiento simultáneo de la carga previa. El suministro de energía se lleva a cabo en el aparato de capa fluidizada por contacto con el gas de secado caliente, a menudo aire. Puede ser razonable un calentamiento previo de la disolución o dispersión, cuando de este modo pueda atomizarse el recubrimiento con mayor proporción de sustancia seca. En caso de empleo de fases líquidas orgánicas es apropiada una recuperación del disolvente y se prefiere el empleo de nitrógeno como gas de secado para evitar mezclas gaseosas explosivas. La temperatura del producto durante el recubrimiento debería hallarse en el rango de aproximadamente 30 a 80 °C, particularmente de 35 a 70°C y especialmente de 40 a 60°C. El recubrimiento puede realizarse en el aparato de capa fluidizada, en principio, por el procedimiento de atomizado por el fondo (el difusor descansa en el plato de incidencia y atomiza hacia arriba) o de

atomizado por cabeza (el recubrimiento se pulveriza desde arriba en la capa fluidizada). En caso de empleo de un mezclador para el recubrimiento, tras el atomizado de la disolución o dispersión, se tiene que eliminar el disolvente o fluido de la dispersión. Esto puede efectuarse en un secador.

5 Conforme a un segundo modo de ejecución especialmente preferente del procedimiento conforme a la invención, el recubrimiento del granulado bruto cargado en un lecho fluidizado o mezclador se lleva a cabo por medio de una masa fundida del material que conforma el recubrimiento.

10 El recubrimiento de fusión en una capa fluidizada se lleva a cabo preferentemente cargando previamente el granulado bruto a recubrir en el aparato de capa fluidizada. El material previsto para el recubrimiento se funde en un recipiente externo y se bombea al difusor, por ejemplo, a través de una línea calentable previamente. Resulta apropiado un calentamiento del gas de difusión. La velocidad de atomizado y la temperatura de entrada de la masa fundida se ajustan preferentemente, dejando discurrir el material bien sobre la superficie del granulado y cubriéndolo uniformemente. Es posible calentar previamente el granulado antes de atomizarle la masa fundida. En el caso de los materiales con alto punto de fusión, se selecciona generalmente la temperatura de forma que se evite considerablemente una pérdida de actividad enzimática. La temperatura del producto debería hallarse, por
15 consiguiente, preferentemente en el rango de aproximadamente 30 a 80°C, particularmente de 35 a 70°C y especialmente de 40 a 60°C. También el recubrimiento de fusión puede realizarse, en principio, por el procedimiento de atomizado por el fondo o de atomizado por cabeza

20 El recubrimiento de fusión en un mezclador puede efectuarse de dos formas diferentes. O bien se carga el granulado a recubrir previamente en un mezclador apropiado y se atomiza o rocía una masa fundida del material en el mezclador. Otra posibilidad consiste en mezclar el material hidrófobo presente en forma sólida con el producto. Suministrando energía a través de la pared del recipiente o del instrumento de mezclado se funde el material hidrófobo y cubre así el granulado bruto. Dependiendo de la necesidad puede añadirse de vez en cuando algo de agente separador. Son agentes separadores apropiados, por ejemplo, el ácido silícico, talco, estearatos y fosfato tricálcico, o sales como sulfato de magnesio o sodio o carbonato cálcico.

25 A las disoluciones, dispersiones o fusiones empleadas para el recubrimiento se les pueden añadir eventualmente otros aditivos, como por ejemplo celulosa microcristalina, talco y caolín, o sales.

30 En un modo de ejecución particular conforme a la invención del procedimiento puede prescindirse de la adición de agentes separadores durante la aplicación del material o de la adición de agente esto es particularmente posible, cuando los núcleos enzimáticos usados tengan tamaños medios de partícula de al menos 300 µm, preferentemente de al menos 350 µm, particularmente de al menos 400 µm, por ejemplo, en el rango de 250 a 1600 µm, preferentemente de 300 µm a 1500 µm y particularmente de 400 µm a 1400 µm, y, al mismo tiempo, la proporción de material de recubrimiento utilizado no valga, relativo a la partícula completa, más del 30% en peso, preferentemente del 25% en peso, particularmente del 20% en peso y especialmente del 17% en peso. En este casos se pueden recubrir especialmente bien los núcleos enzimáticos sin aglomeración de las partículas.

35 La adición de un auxiliar de fluencia tras el paso de recubrimiento puede mejorar las propiedades de fluencia del producto. Son auxiliares de fluencia típicos los ácidos silícicos, por ejemplo, los productos Sipemat del Fab. Degussa o los productos Tixosil del Fab. Rhodia, talco, estearatos y fosfato tricálcico, o sales como sulfato de magnesio o sodio o carbonato cálcico.

40 Los auxiliares de fluencia se añaden, relativo al peso total del producto en una cantidad del 0,005 al 5% en peso del producto recubierto. Son contenidos preferentes del 0,1 la 3% en peso y de manera especialmente preferente del 0,2 al 1,5% en peso.

Otro objeto de la invención se relaciona con composiciones de alimentos para animales, particularmente pelletizadas, que contengan, además de los componentes habituales, al menos un aditivo de piensos para animales como aditivos conformes a la definición indicada anteriormente.

45 Finalmente, la invención se relaciona también con el empleo de un aditivo de alimentos para animales conforme a la definición indicada anteriormente para la elaboración de composiciones de alimentos para animales, particularmente tratadas hidrotérmicamente y especialmente pelletizadas.

50 Para la elaboración de las composiciones de alimentos para animales se mezclan los granulados enzimáticos recubiertos elaborados conforme a la invención con los alimentos habituales para animales (como por ejemplo, piensos de engorde de cerdos, piensos de lechones, piensos para cerdos, piensos para pollos y piensos para pavos). La proporción de granulado enzimático se selecciona de forma que el contenido enzimático esté, por ejemplo, en el rango de 10 a 1000 ppm. A continuación se pelletiza el pienso con la ayuda de una prensa de pelletizado apropiada. A tal efecto se acondiciona la mezcla de piensos convencionalmente introduciendo vapor y se prensa, a continuación, con un molde. Dependiendo del molde se pueden elaborar así pellets de aproximadamente

2 a 8 mm de diámetro. La temperatura de proceso más alta aparece además al acondicionar o prensar la mezcla con el molde. Aquí se pueden alcanzar temperaturas en el rango de aproximadamente 60 a 100°C.

Ejemplo comparativo V1:

5 a) En un concentrado acuoso de fitasa con un contenido en masa seca de aproximadamente el 25 al 35% en peso, un valor del pH en el rango de 3,7-3,9 y una actividad de 26000 a 36000 FTU/g se disuelve a 4-10°C un 1% en peso de sulfato de zinc hexahidratado, relativo al concentrado.

10 b) En un mezclador con cuchilla chopper se cargaron previamente 900 g de almidón de maíz, se homogenizaron y se le añadieron lentamente, a temperaturas de 10 a 30°C y homogenizando simultáneamente, 380 g del concentrado de fitasa conteniendo sulfato de zinc y 140 g de una disolución al 10% en peso de alcohol polivinílico (grado de hidrolización: 87-89%). Se homogenizó con enfriamiento del mezclador otros 5 min a temperaturas en el rango de 10 a 50°C, se transformó entonces la pasta así obtenida en una extrusora de bóveda y se extrusionó la pasta a temperaturas en el rango de 30 a 50°C con un molde con un diámetro de orificio de 0,7 mm para dar cordones de 5 cm de longitud.

15 c) El extrudado así obtenido se redondeó en una máquina de redondeado (tipo P50, empresa Glatt) durante 5 min a 350 min⁻¹ (número de revoluciones del plato rotatorio) y se secó a continuación en un secador de lecho fluidizado a una temperatura de hasta 40°C (temperatura del producto) hasta una humedad residual de aproximadamente el 6% en peso. El granulado bruto así obtenido tenía una actividad de aprox. 14200 FTU/g. Los granulados tenían un tamaño del grano de, como máximo, 1300 µm y un tamaño medio de partícula de 650 µm (análisis en tamiz).

20 d) Para el posterior recubrimiento se cargó el granulado bruto previamente en un Aeromat de lecho fluidizado de laboratorio tipo MP-1 del Fab. Niro-Aeromatic. Como recipiente de carga previa se emplearon un cono de plástico con un diámetro del plato de incidencia de 110 mm y un fondo perforado con un 12% de superficie libre. En el caso del agente de recubrimiento se trata de un triglicérido comercial habitual a base de ácidos grasos C₁₆/C₁₈ saturados (punto de fusión 57-61 °C, número de yodo 0,35, número de saponificaciones 192).

25 El granulado bruto cargado en el lecho fluidizado (700 g) se calentó con arremolinado con una proporción de aire de 50 m³/h a 45 °C de temperatura del producto. 124 g del triglicérido se fundieron en el vaso de vidrio a 85 °C y se rociaron a 1 bar de presión de atomizado con gas de atomizado caliente a de 80 a 90 °C mediante aspiración a baja presión por medio de un inyector bimaterial (1 mm) por el procedimiento de atomizado por el fondo sobre el granulado bruto. Durante el atomizado se calentaron previamente el material de recubrimiento y la línea de aspiración a de 80 a 90 °C, para obtener una fina niebla de atomizado; formándose una capa uniforme de recubrimiento alrededor de las y cubriéndose éstas. Durante el procedimiento de atomizado se elevó la proporción de aire a 60 m³/h, para mantener la altura de la capa fluidizada. La duración del atomizado ascendió a 15 min, alcanzando la temperatura del producto de 45 a 48 °C y la temperatura de entrada del aire a aprox. 45 °C. A continuación, se enfrió el producto con remolino a 50 m³/h de aire entrante a 30 °C.

Se obtuvo un producto con los siguientes datos característicos:

35	Composición	
	Almidón de maíz	68,0% en peso
	Fitasa (masa seca)	12,0% en peso
	Alcohol polivinílico:	1,1% en peso
	Sulfato de zinc (ZnSO ₄):	0,4% en peso
40	Triglicérido:	15,0% en peso
	Humedad residual:	3,5% en peso
	Actividad de la fitasa:	aprox. 11800 FTU/g
	Apariencia (microscopio):	partículas con superficie lisa

Ejemplo 1:

a) En un concentrado acuoso de fitasa con un contenido en masa seca de aproximadamente 25-35% en peso, un valor del pH en el rango de 3,7-3,9 y una actividad de 26000-36000 FTU/g se disolvió, a 4-10°C, un 1% en peso de sulfato de zinc hexahidratado, relativo al concentrado. A continuación, se ajustó, añadiendo un 5% en peso, relativo al concentrado de fitasa, de una disolución acuosa de amoníaco al 5% en peso, un valor del pH de 5.

5 b)+c) Utilizando el concentrado de fitasa neutralizado elaborado en a), se elaboró, conforme a la disposición del ejemplo comparativo 1, pasos b) y c), un granulado bruto redondeado. El granulado bruto así obtenido tenía una actividad de aprox. 13300FTU/g. Los granulados tenían un tamaño del grano de, como máximo, 1300 µm y un tamaño medio de partícula de 645 µm (análisis en tamiz).

10 d) el granulado bruto así obtenido se recubrió a continuación, en un Aeromat de lecho fluidizado de laboratorio tipo MP-1 del Fab. Niro-Aeromatic conforme a la disposición del ejemplo comparativo V1, paso d). En el caso del agente de recubrimiento se trata de un triglicérido comercial habitual a base de ácidos grasos C₁₆/C₁₈ saturados (punto de fusión 57-61 °C, número de yodo 0,35, número de saponificaciones 192).

Se obtuvo un producto con los siguientes datos característicos:

Composición:

15	Almidón de maíz	68,0% en peso
	Fitasa (masa seca)	12,0% en peso
	Alcohol polivinílico:	1,1% en peso
	Sulfato de zinc (ZnSO ₄):	0,4% en peso
	Triglicérido:	15,0% en peso
20	Humedad residual:	3,5% en peso
	Actividad de la fitasa:	aprox. 11050 FTU/g
	Apariencia (microscopio):	partículas con superficie lisa

Ejemplo 2:

25 a) En un concentrado acuoso de fitasa con un contenido en masa seca de aproximadamente el 25-35% en peso, un valor del pH en el rango de 3,7-3,9 y una actividad de 26000-36000 FTU/g se disuelve a 4-10°C un 1% en peso de hexahidrato de sulfato de zinc, relativo al concentrado. Se calentó el concentrado a 30°C y se le añadió un 1,1% en peso de metilcelulosa (peso molecular de 70000 - 120000 g/mol, viscosidad: 4600 cps para un 2% en peso de agua y 20 °C, grado de sustitución 1,6-1,9) y se removió, hasta que la metilcelulosa se hubiera disuelto totalmente. A continuación, se ajustó añadiendo el 5% en peso, relativo al concentrado de fitasa, de una al 5% en peso acuosa disolución de amoníaco un valor del pH de 5.

35 b) En un mezclador con cuchilla chopper se predepositaron 890 g de almidón de maíz, se homogenizó y se le añadieron lentamente a temperaturas de 10 a 30°C homogenizando 433 g del concentrado de fitasa del paso a). Se homogenizó con enfriamiento del mezclador durante otros 5 min a temperaturas en el rango de 10 a 50°C, se transformó entonces la pasta así obtenida en un extrusora de bóveda y se extrusionó la pasta a temperaturas en el rango de 30 a 50°C con un molde con un diámetro de orificio de 0,7 mm para dar cordones de 5 cm de longitud.

40 c) el extrudado así obtenido se redondeó en una máquina de redondeado (tipo P50, empresa Glatt) durante 5 min a 350 min⁻¹ (número de revoluciones del plato rotatorio) y se secó a continuación en un secador de lecho fluidizado a una temperatura de hasta 40°C (temperatura del producto) hasta una humedad residual de aproximadamente el 6% en peso. El granulado bruto así obtenido tenía una actividad de aprox. 12700 FTU/g. Los granulados tenían un tamaño del grano de, como máximo, 1400 µm y un tamaño medio de partícula de 662 µm (análisis en tamiz).

d) el granulado bruto así obtenido se recubrió a continuación, en un Aeromat de lecho fluidizado de laboratorio tipo MP-1 del Fab. Niro-Aeromatic conforme a la disposición del ejemplo comparativo V1, paso b). En el caso del agente de recubrimiento se trata de un triglicérido comercial habitual a base de ácidos grasos C₁₆/C₁₈ saturados (punto de fusión 57-61 °C, número de yodo 0,35, número de saponificaciones 192).

Se obtuvo un producto con los siguientes datos característicos:

Composición:

	Almidón de maíz	68,6% en peso
	Fitasa (masa seca)	12,0% en peso
5	Metilcelulosa:	0,5% en peso
	Sulfato de zinc (ZnSO ₄):	0,4% en peso
	Triglicérido:	15,0% en peso
	Humedad residual:	3,5% en peso
	Actividad de la fitasa:	aprox. 10450 FTU/g
10	Apariencia (microscopio):	partículas con superficie lisa

Ejemplo comparativo V2:

La elaboración se llevó a cabo de forma análoga al ejemplo 2, no separándose, a diferencia de la disposición allí indicada, ninguna disolución acuosa de amoníaco.

Se obtuvo un producto con los siguientes datos característicos:

15 Composición:

	Almidón de maíz	68,6% en peso
	Fitasa (masa seca)	12,0% en peso
	Metilcelulosa:	0,5% en peso
	Sulfato de zinc (ZnSO ₄):	0,4% en peso
20	Triglicérido:	15,0% en peso
	Humedad residual:	3,5% en peso
	Actividad de la fitasa:	aprox. 10760 FTU/g
	Apariencia (microscopio):	partículas con superficie lisa

Ensayo 1: determinación de la estabilidad de pelletizado

25 Para la evaluación de la estabilidad de pelletizado de los granulados enzimáticos arriba descritos se efectuó un pelletizado estándar. A tal efecto se elevó, para la mejora de las determinaciones analíticas del contenido, la dosificación en el alimento para animales. El pelletizado se realiza de forma que se obtenga una temperatura de acondicionamiento de 80 a 85 °C. Se obtienen muestras representativas del alimento para animales antes y después del pelletizado. En estas muestras se determina la actividad enzimática. Eventualmente, tras la corrección del contenido de enzima nativamente existente, se pueden calcular las pérdidas condicionadas por el pelletizado y/o la actividad residual relativa (=retención).

30

El método de análisis para la fitasa se describe en diversas publicaciones: Determinación Simple y Rápida de la Actividad de la Fitasa, Engelen et al., Journal of AOAC International, Vol. 77, No. 3, 1994; fitasa Actividad de la Fitasa, Pruebas y Ensayos Generales, Códice de Productos Químicos Alimentarios (FCC), IV, 1996, p. 808-810; determinación de la actividad de la fitasa en materiales enzimáticos estándar y preparados enzimáticos, libro de métodos de VDLUFA, Vol.III, 4. Erg. 1997; o determinación de la actividad de la fitasa en alimentos para animales y mezclas previas, libro de métodos de VDLUFA, Vol.III, 4. Erg. 1997.

35

ES 2 384 183 T3

Como alimento para animales se usó un pienso para pollos habitual en la práctica con la siguiente composición:

	Maíz	45,5%
	Perdigón de extracción de soja	27,0%
	Semillas de soja completamente grasas	10,0%
5	Guisante	5,0%
	Tapioca	4,7%
	Aceite de soja	3,5%
	Calcio	1,35%
	Fosfato monocálcico	1,30%
10	Sal común	0,35%
	Premezcla Vitamina/elementos traza	1,00%
	D,L-metionina	0,25%
	L-Lisina-HCl	0,05%
		100%

15 Los granulados recubiertos elaborados en los ejemplos antes indicados se mezclaron con los piensos estándar antes indicados (proporción 500 ppm), se pelletizaron y se analizaron las muestras obtenidas. La mejora relativa de la retención de la actividad enzimática frente al granulado del ejemplo comparativo V1 se determinó como sigue: razón retención de la actividad enzimática del granulado mejorado a retención de la actividad enzimática del granulado del ejemplo comparativo V1. Los resultados se resumen en la siguiente Tabla 1.

20 Tabla 1: estabilidad de pelletizado obtenida

N°	descripción del granulado (recubrimiento, aglutinante, pH)	estabilidad de pelletizado relativa [%]
Ej. Comp. V1	15% de grasa, 1,1% de PVA, pH 3,9	100
Ej. 1	15% de grasa, 1,1% de PVA, pH 5	120
Ej. 2	15% grasa, 0,5% MC, pH 5	123
Ej. Comp. V2	15% grasa, 0,5% MC, pH 3,9	112
PVA = alcohol polivinílico MC = metilcelulosa		

Ensayo 2:

5 Para la evaluación del valor del pH del granulado del ejemplo comparativo V1, se precargaron 200 ml de agua totalmente desalinizada en un matraz de 250 ml y se agitaron con un agitador magnético del tipo IKA RCT básico en la etapa 7-8 a 25 °C. Durante la agitación se añadieron lentamente 5 g del granulado del ejemplo comparativo V1 desmenuzado en un mortero y se midió además el valor del pH. El granulado se hinchaba primero arriba mayormente sin disolver. Tras aprox. 5 minutos cayó el valor del pH primero a 6,2 y el granulado estaba mayormente disuelto. Tras 13 min, el granulado estaba disuelto casi totalmente hasta porcentaje fino y el valor del pH se localizó entre 4,28 - 4,35. Se obtuvo una suspensión lechosa turbia. Tras 25 min se detuvo el ensayo, ya que no se mostraba ya variación alguna en el valor del pH.

10 Ensayo 3:

15 Para la evaluación del valor del pH del granulado del ejemplo 1 se precargaron en un matraz de 250 ml 200 ml de agua totalmente desalinizada y se agitaron con un agitador magnético del tipo IKA RCT básico en la etapa 7-8 a 25 °C. Durante la agitación se añadieron lentamente 5 g del granulado desmenuzado en un mortero del ejemplo comparativo V1 y se midió además el valor del pH. El granulado se hinchaba primero arriba mayormente sin disolver. Tras aprox. 5 minutos cayó el valor del pH a 6,5 y el granulado estaba mayormente disuelto. Tras aprox. 15 min se disolvió el granulado casi totalmente hasta fracción fina y el valor del pH estaba entre 5,6 - 5,7. Se obtuvo una suspensión lechosa turbia. Tras 30 min se detuvo el ensayo, ya que no se mostraba ya variación alguna en el valor del pH.

REIVINDICACIONES

1. Granulado enzimático conteniendo fitasa(s) para alimentos para animales, cuyas partículas tienen:
- a) un núcleo, que comprenda al menos una fitasa y al menos un material portador sólido apropiado para los alimentos para animales, y
 - 5 b) un recubrimiento dispuesto sobre el núcleo, que consista en hasta al menos un 90% en peso de sustancias hidrófobas insolubles en agua, alcanzando la proporción de carbono e hidrógeno al menos el 80% en peso de las sustancias hidrófobas,
- ofreciendo los núcleos de las partículas o las partículas completas, al suspenderlo o disolverlo en agua totalmente desalinizada a 25°C, un valor del pH en el rango de 4,5 a 6,5.
- 10 2. Granulado enzimático acorde a la reivindicación 1, caracterizado porque el núcleo comprende al menos un tampón para el ajuste del valor del pH.
3. Granulado enzimático acorde a la reivindicación 1 ó 2, en donde la sustancia hidrófoba se selecciona entre uno o varios triglicéridos.
- 15 4. Granulado enzimático conforme a una de las anteriores reivindicaciones, en donde la razón en peso de núcleo respecto a recubrimiento se encuentra en el rango de 70:30 a 99:1.
5. Granulado enzimático conforme a una de las anteriores reivindicaciones, cuyas partículas tienen un tamaño medio de partícula en el rango de 100 a 2000 µm.
- 20 6. Granulado enzimático conforme a una de las anteriores reivindicaciones, en donde se elabora el núcleo enzimático utilizando un concentrado enzimático acuoso, que presente a 25°C un valor del pH en el rango de 4,5 a 6,5.
7. Granulado enzimático conforme a una de las anteriores reivindicaciones, en donde el material portador comprende al menos un hidrato de carbono polimérico insoluble en agua.
8. Granulado enzimático conforme a una de las anteriores reivindicaciones, en donde el núcleo enzimático contiene
- i) del 50 al 96,9% en peso de al menos un material portador sólido apropiado para alimentos para animales,
 - 25 ii) del 0,1 al 20% en peso, de al menos un aglutinante polimérico hidrosoluble,
 - iii) del 3 al 49,9% en peso de al menos una fitasa o de una mezcla enzimática, que comprenda al menos una fitasa, y
 - iv) eventualmente, agua,
- estando los porcentajes en peso de i), ii) y iii) basados, en cada caso, en los componentes no acuosos del núcleo.
- 30 9. Granulado enzimático acorde a la reivindicación 8, en donde el aglutinante polimérico hidrosoluble se selecciona entre alcohol polivinílico y polisacáridos hidrosolubles.
10. Granulado enzimático acorde a la reivindicación 9, donde el aglutinante polimérico hidrosoluble comprende un éter neutro de celulosa, particularmente metilcelulosa.
- 35 11. Granulado enzimático conforme a una de las anteriores reivindicaciones, en donde el núcleo contiene adicionalmente una sal estabilizadora de la enzima en una cantidad del 0,1 al 10% en peso, relativo al peso total de todos los componentes no acuosos del núcleo.
12. Granulado enzimático acorde a la reivindicación 11, en donde la sal se selecciona entre sulfato de zinc y sulfato de magnesio.
- 40 13. Procedimiento para la elaboración de granulados enzimáticos sólidos conteniendo fitasa según al menos una de las reivindicaciones 1 a 12, comprendiendo los siguientes pasos:

a) preparación de un granulado bruto conteniendo fitasa no recubierto, que comprenda al menos una fitasa y al menos un material portador sólido apropiado para los alimentos para animales y que, al suspenderlo o disolverlo en agua totalmente desalinizada a 25°C, proporcione un valor del pH en el rango de 4,5 a 6,5, y

b) recubrimiento del granulado bruto.

5 **14.** Procedimiento acorde a la reivindicación 13, en donde el granulado bruto conteniendo fitasa se produce utilizando un concentrado enzimático acuoso conteniendo fitasa, cuyo valor del pH se encuentre, en agua totalmente desalinizada a 25°C, en el rango de 4,5 a 6,5.

10 **15.** Procedimiento acorde a la reivindicación 14, en donde se procesa en el paso a) una mezcla, comprendiendo el portador compatible con los alimentos para animales y el concentrado enzimático acuoso conteniendo fitasa, mediante extrusión, granulación en mezclador, granulación en lecho fluidizado, aglomeración en plato, aglomeración por pulverizado, granulación por pulverizado o compactado para dar un granulado bruto.

16. Procedimiento acorde a la reivindicación 15, en donde el paso a) comprende la extrusión de una pasta conteniendo enzima(s), que contenga, además de agua:

i) del 50 al 96,9% en peso de al menos un material portador sólido apropiado para alimentos para animales,

15 ii) del 0,1 al 20% en peso de al menos un derivado de celulosa neutro hidrosoluble,

iii) del 3 al 49,1% en peso de al menos una enzima,

estando basados los porcentajes en peso de i), ii) y iii), en cada caso, en los componentes no acuosos de la pasta.

17. Procedimiento según al menos una de las reivindicaciones 13 a 16, en donde se emplea en el paso b) el material usado para la elaboración del recubrimiento en forma de su masa fundida.

20 **18.** Procedimiento según al menos una de las reivindicaciones 13 a 17, en donde se somete al granulado bruto a una esferonización en el paso a), antes de recubrirlo, y secándose, a continuación, hasta un contenido en agua residual de no más del 15% en peso, relativo al peso total del granulado bruto.

25 **19.** Granulado bruto conteniendo fitasa, comprendiendo al menos una fitasa y al menos un material portador sólido apropiado para los alimentos para animales, que, al suspenderlo o disolverlo en agua totalmente desalinizada a 25°C, de un valor del pH en el rango de 4,5 a 6,5.

20. Empleo de un granulado enzimático conteniendo fitasa según al menos una de las reivindicaciones 1 a 12 en alimentos para animales.

21. Alimento para animales, que contenga al menos un granulado enzimático conteniendo fitasa según al menos una de las reivindicaciones 1 a 12 y componentes habituales de los alimentos para animales.

30 **22.** Alimento para animales acorde a la reivindicación 21 en forma de alimento para animales pelletizado.