ROYAUME DE BELGIQUE

MINISTERE DES AFFAIRES ECONOMIQUES

# BREVET D'INVENTION

NUMERO DE PUBLICATION : 1010449A3

NUMERO DE DEPOT : 09600676

Classif. Internat. : C12P A23L

Date de délivrance le : 04 Août 1998

---

**Le Ministre des Affaires Economiques,**

Vu la loi du 28 Mars 1984 sur les brevets d'invention, notamment l'article 22;

Vu l' arrêté royal du 2 Décembre 1986 relatif à la demande, à la délivrance et au maintien en vigueur des brevets d'invention, notamment l'article 28;

Vu le procès verbal dressé le 01 Août 1996 à 15H00 à l 'Office de la Propriété Industrielle

# ARRETE:

ARTICLE 1.- Il est délivré à : RAFFINERIE TIRLEMONTOISE Société Anonyme avenue de Tervueren 182, B-1150 BRUXELLES(BELGIQUE)

représenté(e)(s) par : VAN MALDEREN Eric, OFFICE VAN MALDEREN, Place Reine Fabiola 6/1 - B 1083 BRUXELLES.

un brevet d' invention d' une durée de 20 ans, sous réserve du paiement des taxes annuelles, pour : PROCEDE DE PREPARATION D'UNE COMPOSITION POLYDIPERSEE DE SACCHARIDES, COMPOSITION POLYDISPERSEE DE SACCHARIDES, PRODUIT ALIMENTAIRE, PHARMACEUTIQUE ET/OU COSMETIQUE COMPRENANT LADITE COMPOSITION POLYDISPERSEE.

INVENTEUR(S) : De Leenheer Leen, Jezus-Eiklaan 64, B-3080 Tervuren (BE);Booten Karl, Glabbeekstraat 106, B-3450 Geetbeets (BE)

ARTICLE 2.- Ce brevet est délivré sans examen préalable de la brevetabilité de l'invention, sans garantie du mérite de l'invention ou de l'exactitude de la description de celle-ci et aux risques et périls du(des) demandeurs(s).

Bruxelles, le 04 Août 1998
PAR DELEGATION SPECIALE :

PETIT M.
Conseiller adjoint

# PROCÉDÉ DE PRÉPARATION D'UNE COMPOSITION POLYDISPERSÉE DE SACCHARIDES, COMPOSITION POLYDISPERSÉE DE SACCHARIDES, PRODUIT ALIMENTAIRE, PHARMACEUTIQUE ET/OU COSMÉTIQUE COMPRENANT LADITE COMPOSITION POLYDISPERSÉE

La présente invention se rapporte à un procédé de préparation d'une composition polydispersée de saccharides pauvre en glucose (G), fructose (F) et saccharose (GF), comprenant au moins 93,5% en poids par matière sèche (MS) de fructo-oligosaccharides constitués de chaînes d'unités de fructose de la formule $F_m$ et de chaînes d'unités de fructose avec un glucose terminal de la formule $GF_n$, n et m étant compris entre 2 et 20, suivant lequel une matière contenant des fructanes est soumise à une hydrolyse partielle.

Un tel procédé est décrit dans le brevet EP-B-0440074, qui concerne un procédé de fabrication d'un produit inulo-oligosaccharide pauvre en glucose, fructose et saccharose. La matière contenant des fructanes est une

matière végétale contenant de l'inuline qui est soumise, directement après broyage et pasteurisation, à un traitement enzymatique utilisant une endo-inulinase. On obtient ainsi une bouillie partiellement hydrolysée que l'on filtre, et on obtient un filtrat contenant 12,5% de disaccharides, dont 66% de saccharose et 34% d'inulobiose. Ensuite, un traitement du filtrat par une alpha-glucosidase a lieu pour en éliminer le saccharose, c'est-à-dire que le saccharose est transformé en glucose et fructose. Le glucose et le fructose sont ensuite enlevés par séparation chromatographique.

Ce procédé présente l'inconvénient d'exiger deux traitements enzymatiques et une séparation chromatographique, ce qui augmente son coût et sa complexité.

Un tel procédé est également décrit dans l'article "Isolation and Identification of O-β-D-fructofuranosyl-(2-1)-O-ß-fructofuranosyl-(2-1)-D-fructose, a product of the enzymic hydrolysis of the inulin from Cichorium intybus" (A. De Bruyn et al., Carbohydrate Research, 235, pp.303-308 (1992)). Dans le procédé décrit dans cet article, on utilise comme matière contenant les fructanes, de l'inuline qui a été extraite de racines de chicorée (Cichorium intybus). Cette inuline est soumise à un traitement enzymatique utilisant une endo-inulinase. On obtient ainsi un produit sirupeux brut contenant 85% en poids par matière sèche (MS) de fructo-oligosaccharides. Ce produit brut est ensuite enrichi par chromatographie en produisant une fraction enrichie contenant 95% de fructo-oligosaccharides (principalement des $GF_n$) et une fraction pauvre contenant 55% de fructo-oligosaccharides ($GF_n + F_m$).

Bien que ce procédé connu ne requière qu'un traitement enzymatique, une séparation chromatographique reste indispensable. De plus, la fraction contenant 55% de

fructo-oligosaccharides est un sous-produit qui a peu de valeur du point de vue commercial.

Le but de la présente invention est de fournir un procédé tel que défini ci-dessus, qui permet d'éviter les inconvénients des procédés de l'état de la technique connu.

La présente invention concerne en particulier un procédé de préparation d'une composition polydispersée de saccharides pauvre en glucose (G), fructose (F) et saccharose (GF) comprenant au moins 93,5% en poids par matière sèche (MS) de fructo-oligosaccharides constitués de chaînes d'unités de fructose de la formule $F_m$ et de chaînes d'unités de fructose avec un glucose terminal de la formule $GF_n$, n et m étant compris entre 2 et 20, suivant lequel une matière contenant des fructanes est soumise à une hydrolyse partielle. A cet effet, selon l'invention, la matière contenant des fructanes comprend des fructanes de degré de polymérisation (DP) moyen d'au moins 7, c'est-à-dire supérieur ou égal à 7, et comprend tout au plus 3,5% en poids par matière sèche au total de glucose, de fructose et de saccharose.

En effet, il a été trouvé que, lorsque l'on utilise dans l'hydrolyse partielle ladite matière, on obtient directement une composition polydispersée comprenant au moins 93,5% par MS de fructo-oligosaccharides sans nécessiter une séparation chromatographique. Avantageusement, la composition polydispersée comprend au moins 95% de fructo-oligosaccharides et ladite matière comprend des fructanes contenant tout au plus 2% de F, G et GF au total.

De préférence, la matière contenant dans fructanes comprend tout au plus 1% de F, G et GF au total.

Par "fructane", on entend tout composé dont un ou plusieurs liens fructosyl-fructose constituent la plupart des liens, tel qu'indiqué dans le document "Glossary of Fructan Terms" (A. L. Waterhouse et al., Science and Technology of Fructans, pp. 1-7 (1993)), incorporé ici par référence.

Par "degré de polymérisation (DP) moyen", on entend le degré de polymérisation moyen ($\overline{DP_n}$) calculé, après hydrolyse totale, de la façon suivante :

$$\overline{DP}_n = \frac{\%\ total\ de\ F}{\%\ total\ de\ G} + 1$$

Il s'agit donc d'une moyenne de nombre (voir également "Production and us of inulin : Industrial reality with a promising future" (De Leenheer L., Carbohydrate as organic Raw Material Vol. III, pp. 67-92 (1996)) incorporé ci-après par référence).

Par "hydrolyse partielle", on entend une hydrolyse de la matière contenant des fructanes afin d'obtenir des oligosaccharides dont le DP maximal est de 20 et la teneur en F + G + GF est inférieure à 5%, et donc opposée à une hydrolyse totale qui impliquerait une dégradation complète en monomères.

Avantageusement, dans le procédé selon l'invention, les fructanes sont du type inuline ou du type lévane; l'inuline et le lévane étant caractérisés par la présence principale de liens fructosyl-fructose respectivement du type β-(2-1) et du type β-(2-6) (voir également le document cité dans le paragraphe précédent).

L'inuline peut être de l'inuline naturelle ou être produite par des micro-organismes. Dans l'inuline naturelle, le DP varie en général de 2 à 60, voire davantage, et il dépend de l'origine végétale, de l'âge de la plante, de la

durée et des conditions de sa conservation ainsi que du procédé d'extraction éventuel. L'inuline peut être extraite de la chicorée (Cichorium intybus), du dahlia (Dahlia variabilis), du topinambour (Helianthus tuberosus) ou du fond d'artichaut (Cynara scolymus). L'inuline peut aussi être extraite des plantes qui ont été génétiquement manipulées. Un procédé de transformation génétique de telles plantes est décrit notamment dans la demande de brevet WO94/14970. Le DP des fructanes obtenu de telles plantes dépasse aisément 10000.

Une inuline naturelle apte à être utilisée dans le procédé selon l'invention est par exemple une inuline ayant un DP moyen de 27 et exempte de G, F et GF. Cette inuline est commercialisée sous le nom SIGMA ® avec référence I-2255, I-3754 et I-2880 selon que l'inuline est extraite respectivement de la chicorée, du dahlia ou du topinambour.

Une autre inuline naturelle apte à être utilisée est une inuline extraite de la chicorée qui est commercialisée par ORAFTI sous le nom Raftiline ® HP. Ce produit a un DP moyen d'au moins 23 et contient au maximum, en totalité par rapport aux autres saccharides, 0,5% de G, F et GF (voir également la fiche de produit datée du 04/96 distribuée par ORAFTI). La production de ce produit est décrite dans la demande de brevet WO96/01849. Selon cette demande, on part d'une solution d'inuline extraite de la chicorée qui a une température de 65 °C. Cette solution est mise dans un état métastable et ensuite rapidement refroidie. Puis on ajoute des germes d'inuline. Ainsi, on obtient un précipité d'inuline fractionnée dans la solution. Ce précipité est séparé de la solution et est ensuite lavé et séché. L'inuline fractionnée obtenue est exempte d'impuretés, a un DP moyen de 20 et contient moins de 2% de F, G et GF.

Il est évident que dans le procédé selon l'invention, on peut utiliser le précipité lavé tel quel comme matière première.

Le DP d'une inuline produite par des micro-organismes peur varier jusqu'à des valeurs de l'ordre de 60000. Une telle inuline est, par exemple, synthétisée à partir de saccharose par Aspergillus sydowi conidia en présence de L-cystéine, comme décrit dans l'article "Characteristics and Applications of a Polyfructan Synthesized from Sucrose by Aspergillus sydowi conidia" (T. Harada et al., Food Hydrocolloids, Vol. 7, No.1, pp 23-28 (1993)). L'obtention d'une inuline "bactérienne" par une fructosyltransférase de Streptococcus mutans est décrite dans "Genetic and Antigenic Comparison of Streptococcus mutans Fructosyltransferase and Glucan-binding Protein" (J. Aduse-Opoku, FEMS Microbiology Letters 59, pp. 279-282 (1989)).

Le lévane se présente dans la nature surtout dans des herbes, mais l'extraction du lévane d'herbes n'est pas exploitée actuellement industriellement. Le lévane est principalement obtenu par des micro-organismes, par exemple à partir de saccharose par l'activité de l'enzyme levansucrase de Bacillus subtilis tel que décrit dans "Modification of the Transfructosylation Activity of Bacillus subtalis levansucrase by Solvent Effect and Site-directed Mutagens" (R. Chambert et al., A. Fuchs (Ed.) Inulin and Inulin-containing crops, pg 259 (1993)). Il est évident que le lévane peut être également extrait (comme mentionné plus haut pour l'inuline) de plantes qui ont été génétiquement manipulées.

Selon l'invention, la matière contenant des fructanes est mise en solution préalablement au traitement hydrolytique. Il est souhaitable de préparer une solution de

5 à 25% par matière sèche, de préférence de 10 à 20% par matière sèche, de fructanes. Pourtant, en présence de fructanes ayant un DP élevé, il se peut que l'on ne puisse même pas dissoudre 5% de fructanes. En tout cas, il importe de veiller à ce que les fructanes soient complètement solubilisés.

Le traitement hydrolytique peut consister en un traitement enzymatique partiel des fructanes. Ce traitement enzymatique partiel des fructanes est bien connu de l'Homme de l'Art.

Dans le cas où les fructanes sont de l'inuline, on utilise une préparation enzymatique ayant une activité endo-inulinase. De telles préparations sont connues et peuvent être obtenues e.a. de cultures de Penicillium, Aspergillus, Fusarium ou Chrysosporium (voir également le document "The production of Fructooligosaccharides from Inulin or Sucrose Using Inulinase or Fructosyltransferase from Aspergillus ficuum" (Denpun Kagaku, Vol. 36, No. 2, pp. 103-111 (1989)), incorporé ici par référence).

Dans le cas où les fructanes sont du lévane, on utilise une préparation enzymatique ayant une activité endo-levanase, comme décrit dans l'article "Metabolism in Microorganisms, Part II, Biosynthesis and Degradation of Fructans by Microbial Enzymes Other than Levansucrase" (T. Uchiyama, Science and Technology of Fructans, pg 169 (1993)).

Il va de soi que les préparations enzymatiques ne peuvent avoir qu'un faible activité exo, de préférence, elles sont essentiellement exemptes d'activité exo. En général, le traitement enzymatique a lieu à une température de 58 à 62 °C et à un pH de 5,2 à 5,6, de préférence 5,4. La quantité d'unités d'enzymes (méthode NOVO) que l'on ajoute varie de 0,25 à 6 par gramme de matière sèche de fructanes dans la

solution. De préférence, on utilise 0,4 à 1 unité d'enzyme par gramme. La réaction enzymatique prend alors respectivement 50 à 2 heures et 30 à 12 heures. Quand les fructanes ont un DP moyen élevé, par exemple supérieur à 50 comme notamment des fructanes produits par des micro-organismes, il est recommandé d'augmenter, de préférence de doubler, la quantité d'unités d'enzyme que l'on utilise et/ou d'augmenter la durée de réaction. La réaction enzymatique peut être arrêtée notamment en bouillant la solution hydrolysée et/ou en augmentant le pH à 8,5 - 9.

Il est évident que la solution polydispersée de saccharides que l'on obtient après le traitement enzymatique est ensuite purifiée, si nécessaire, par des traitements bien connus en soi. Eventuellement, on peut évaporer la solution afin d'obtenir un sirop d'une certaine matière sèche ou on peut sécher la solution, par exemple par un séchage par atomisation, afin d'obtenir une poudre de la granulométrie désirée.

La présente invention se rapporte également à une composition polydispersée de saccharides pauvre en glucose (G), fructose (F) et saccharose (GF) comprenant au moins 93,5%, de préférence 95%, en poids par MS, de fructo-oligosaccharides constitués de chaînes d'unités de fructose et de chaînes d'unités de fructose avec un glucose terminal, ces chaînes étant représentées respectivement par la formule $F_m$ et la formule $GF_n$, dans lesquelles n et m sont compris entre 2 et 20.

Une telle composition polydispersée de saccharides est décrite dans le brevet EP-B-0440074. Dans cette composition connue, le rapport entre les fructo-oligosaccharides non-réduisants ($GF_n$) et les fructo-oligosaccharides réduisants ($F_m$) n'est pas indiqué.

Cependant, du procédé de préparation de cette composition, on peut déduire que la plupart des fructo-oligosaccharides sont des $GF_n$.

Une telle composition polydispersée de saccharides est également décrite dans l'article de A. De Bruyn et al. cité plus haut. Cette composition connue comprend principalement des fructo-oligosaccharides de la formule $GF_n$. Cette composition est commercialisée par ORAFTI sous le nom Raftilose ® L95 pour la forme liquide (sirop) et le nom Raftilose ® P95 pour la forme solide (poudre) (voir également les fiches de produit datées 05/95 distribuées par la société Raffinerie Tirlemontoise).

Ces compositions connues sont surtout utilisées dans l'industrie alimentaire. Par exemple, comme ingrédient alimentaire, elles se combinent de manière aisée aux autres ingrédients des produits alimentaires sans perturber en général les propriétés organoleptiques et visuelles des dits produits. En effet, ces compositions sont souvent utilisées en combinaison avec des polyalcools (étant des succédanés du sucre), afin d'améliorer certaines propriétés de ces polyalcools, notamment la coloration des produits alimentaires que l'on fait cuire. Pourtant, ces compostions connues présentent l'inconvénient que dans certaines utilisations, telles que la pâtisserie, elles n'améliorent pas suffisamment la coloration.

En outre, la préparation de ces compositions connues est complexe et coûteuse.

Le but de la présente invention est de fournir également une nouvelle composition polydispersée de saccharides telle que définie ci-dessus, qui évite les inconvénients des compositions connues, et qui présente dans des produits alimentaires des propriétés organoleptiques et

visuelles comparables ou améliorées par rapport aux compositions connues.

A cet effet, les fructo-oligosaccharides comprennent plus de 43% en poids de fructo-oligosaccharides de formule $F_m$.

Avantageusement, les fructo-oligosaccharides comprennent plus de 45%, de préférence plus de 50%, en poids de fructo-oligosaccharides de formule Fm.

De préférence, la composition selon l'invention comprend moins de 5%, plutôt moins de 4%, en poids par MS totale de fructose, de glucose et de saccharose.

Avantageusement, la composition de l'invention comprend tout au plus 1% en poids par MS de saccharose. Une telle composition convient encore mieux pour des diabètes.

Les liens entre les unités de fructose peuvent être du type β(2-1) ou du type β(2-6).

Avantageusement, la composition selon l'invention est obtenue par le procédé selon l'invention défini ci-dessus.

Les compositions selon l'invention sont particulièrement adéquates pour être utilisées dans l'alimentation humaine ou animale comme agents de masse, édulcorants, aliments faiblement caloriques ou faiblement cariogènes, produits bifidogènes ou améliorant la flore intestinale, produits à effet de fibres alimentaires, agents diminuant le taux de cholestérol, ou encore pour améliorer la tolérance des produits alimentaires.

Les compositions selon l'invention sont aussi particulièrement adéquates pour être utilisées dans des produits pharmaceutiques et/ou cosmétiques.

Par conséquent, la présente invention concerne également la composition pharmaceutique et/ou cosmétique

comprenant la composition polydispersée de saccharides selon l'invention.

Les exemples suivants illustrent de manière non limitative l'objet de la présente invention.

**Exemple 1**

Cet exemple se rapporte à la préparation d'une composition selon l'invention obtenue par le procédé selon l'invention.

La matière première contenant des fructanes est de l'inuline extraite de la chicorée ayant un DP moyen de 27 et exempte de F, G et GF. Il s'agit d'une inuline commercialisée sous le nom SIGMA ®. De cette inuline, on prépare une solution de 10% MS. On adapte le pH de la solution jusqu'à une valeur de 8 et on chauffe pendant 15 minutes à 90 °C afin d'obtenir une solution claire. On refroidit la solution claire jusqu'à 65 °C avant de la tamponner jusqu'à un pH de 5,4.

Ensuite, on ajoute 0,6 unités de l'enzyme A. Ficuum endo-inulinase (NOVO) par gramme de MS d'inuline pendant un traitement de 24 heures en maintenant la température à 60 °C. L'hydrolyse enzymatique est arrêtée en portant à ébullition la solution hydrolysée après avoir porté le pH à 8. La solution polydispersée de saccharides ainsi obtenue est ensuite décolorée et dessalée selon les procédés connus de l'Homme de l'Art. Le solvant de la solution polydispersée est ensuite évaporé pour obtenir un sirop de 75% MS aisément stockable.

On a déterminé le rapport entre les différents saccharides dans la solution obtenue par GS (Gas Chromatography).Les résultats sont donnés dans le tableau 1.

Ce rapport est déterminé pour une composition selon les procédés de l'état de la technique décrit plus haut, tels que notamment utilisés pour caractériser les produits Raftilose ® L95 commercialisés par ORAFTI. Les résultats comparatifs sont également donnés dans le tableau 1.

**Tableau 1**

| POLYSACCHARIDE | La composition selon l'invention obtenue par le procédé selon l'invention<br>% carbohydrate par MS | La composition selon l'état de la technique Raftilose ® L95<br>% carbohydrate par MS |
|---|---|---|
| Fructose | 1,5 | 0,55 |
| Glucose | 0,1 | 0,04 |
| DFA | 0,5 | 0,12 |
| Saccharose | 0 | 3,52 |
| $F_2$ | 1,58 | 0,41 |
| $GF_2$ | 0,18 | 4,61 |
| $F_3$ | 32 | 6,51 |
| $GF_3$ | 3,16 | 15,18 |
| $F_4$ | 31,11 | 13,42 |
| $GF_4$ | 5,98 | 21,14 |
| $F_5$ | 10,90 | 8,15 |
| $GF_5$ | 4,57 | 16,81 |
| $F_6$ | 6,50 | 8,56 |
| $GF_6$ | 1,05 | 2,31 |
| $F_7$ | 0,7 | 0,72 |
| $GF_7$ | 0,18 | 0,36 |
| $F_8$ | 0 | 0,21 |
| $GF_8$ | 0 | 0,33 |
| $F_9$ | 0 | 0 |
| DP > 10 | 0 | 0,17 |
| **TOTAL** | 100 | 100 |

DFA = di-fructose anhydride

**Exemple 2**

Cet exemple se rapporte également à la préparation d'une composition de l'invention obtenue en utilisant le procédé selon l'invention.

La matière première est de l'inuline commercialisée par ORAFTI sous le nom Raftiline ® HP. Cette inuline contient plus de 99,5% par MS de l'inuline d'un DP moyen d'au moins 23. On prépare une solution de 15% MS. On adapte le pH de la solution jusqu'à une valeur de 8,5 et on chauffe pendant 20 minutes à 90 °C afin d'obtenir une solution claire. Les autres étapes de ce procédé sont celles décrites dans l'exemple 1.

De la manière similaire à l'exemple 1, on détermine la distribution des principaux saccharides du produit obtenu comparée à un produit obtenu selon l'état de la technique, le Raftilose ® L95 commercialisé par Raffinerie Tirlemontoise. Les résultats sont donnés dans le tableau 2.

**Tableau 2**

| | **La composition selon l'état de la technique Raftilose ® L95** | **La composition selon l'invention obtenue par le procédé selon l'invention** |
|---|---|---|
| | **% carbohydrate par MS** | **% carbohydrate par MS** |
| Fructose | 0,5 | 2,5 |
| Saccharose | 3,6 | 0,3 |
| Glucose | 0,1 | 0,1 |
| $F_3$ | 6,4 | 31,7 |
| $F_m$ | 35 | 78,2 |
| $GF_n$ | 60,8 | 19 |
| FOS | 95,8 | 97,2 |
| $F_m$ (% p.r. FOS) | 37 | 81 |
| $GF_n$ (% p.r. FOS) | 63 | 19 |

On a également déterminé l'équivalent dextrose, la viscosité et l'hygroscopicité pour la composition de l'invention et la composition de l'état de la technique. L'équivalent dextrose est respectivement d'environ 10 et environ 24. La viscosité a été déterminée pour une solution respectivement de 77 et 50% MS à une température respective de 10 et 20 °C. Les résultats sont résumés dans le tableau 3.

**Tableau 3**

| Concentration degrés BRIX | Température °C | La composition selon l'invention obtenue par le procédé selon l'invention — Viscosité mPas | La composition selon l'état de la technique Raftilose ® L95 — Viscosité mPas |
|---|---|---|---|
| 77 | 20 | 10000 | 16000 |
| 77 | 10 | 24700 | 57000 |
| 50 | 20 | 23,5 | 29 |
| 50 | 10 | 32 | 45 |

Afin de comparer la rétention d'eau de la composition selon l'invention à celle de la composition selon l'état de la technique, on a déterminé les modifications de poids en fonction du pourcentage d'humidité relative à température ambiante. Les résultats sont donnés dans le tableau 4.

**Tableau 4**

| Humidité relative | Composition selon l'état de la technique Raftilose ® L95 | Composition selon l'invention obtenue par le procédé selon l'invention |
|---|---|---|
| °C | Différence de poids % | Différence de poids % |
| 23 | - 4,2 | - 3,4 |
| 44 | - 2,0 | - 0,2 |
| 66 | + 4,7 | + 6,0 |
| 80 | + 15,7 | + 18,2 |

La composition selon l'invention est caractérisée par une modification de poids plus importante, et est donc plus hygroscopique que la composition selon l'état de la technique. Cela peut être un avantage dans certaines applications, notamment dans la préparation des cakes.

Ces deux exemples démontrent que le procédé selon l'invention est moins complexe que les procédés selon l'état de la technique. En outre le procédé selon l'invention est moins coûteux, ainsi que la composition selon l'invention.

Il ressort des tableaux 1 et 2 que le rapport $F_m/GF_n$ de la composition selon l'invention est différent de celui de la composition selon l'état de la technique et que la composition selon l'invention peut être recommandée aux diabétiques. Les tableaux 3 et 4 démontrent que la composition selon l'invention peut être également recommandée pour certaines applications.

**Exemple 3**

Cet exemple se rapporte également à la préparation d'une composition suivant l'invention utilisant le procédé de l'invention.

La matière première est de l'inuline obtenue par l'action d'une fructosyltransférase de Streptococcus mutans. Cette inuline contient plus de 99,5% par MS de l'inuline d'un DP moyen d'environ 25000. On prépare une solution de 10% MS. On adapte le pH de la solution jusqu'à une valeur de 8 et on chauffe pendant 20 minutes à 90 °C afin d'obtenir une solution claire. On refroidit la solution claire jusqu'à 65 °C avant de la tamponner jusqu'à un pH de 5,4.

Ensuite, on ajoute 12 unités d'endo-inulase nécessaire par gramme de MS d'inuline, laquelle agit pendant 2 heures en maintenant la température à 60 °C. L'hydrolyse enzymatique est arrêtée en bouillant la solution hydrolysée après avoir augmenté le pH à 8,5 - 9. La solution polydispersée de saccharides ainsi obtenue est ensuite décolorée et dessalée de la manière habituelle.

On a déterminé le rapport entre les différents saccharides dans la solution obtenue par HPLC (High Pressure Liquid Chromatographie). Les résultats sont donnés dans le tableau 5.

**Tableau 5**

| | La composition selon l'invention obtenue par le procédé selon l'invention |
|---|---|
| | % carbohydrate par MS |
| Fructose | 3,55 |
| Glucose | 0,11 |
| Saccharose | 0,11 |
| Other DP = 2 | 4 |
| $F_3$ | 30,85 |
| DP = 3 | 23,6 |
| DP = 4 | 11,67 |
| DP ≥ 5 | 26,11 |
| Total | 100 |

**Exemple 4**

Cet exemple se rapporte à l'utilisation de la composition polydispersée de saccharides (CPS) selon l'invention comparée à celle des produits selon l'état de la technique dans des applications diverses. On compare notamment les propriétés des compositions alimentaires obtenues. Les critères sont l'aspect, la structure, la coloration, la texture, la sensation en bouche et le goût.

Chaque application est présentée selon le schéma suivant :

1. Ingrédients et proportions
2. Recette : méthode de préparation
3. Résultats (comparaison des trois préparations)

   Colonne 1 : la référence, c'est-à-dire l'application préparée sans l'addition d'une composition polydispersée de saccharides

Colonne 2 : l'application préparée avec l'addition d'une composition polydispersée de saccharides selon l'état de technique (composition commercialisée sous le nom Raftilose ® L95)

Colonne 3 : l'application préparée avec l'addition d'une composition polydispersée de saccharides selon la présente invention (composition décrite dans l'exemple 2)

4. Conclusions de la comparaison. Si pas de mention particulière, les autres critères donnent des résultats identiques

*Application 1 : lait chocolaté*

1. INGRÉDIENTS

Préparation de 300 g de chaque lait chocolaté

| Lait chocolaté | 1 | | 2 | | 3 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | % | g | % | g | % | g |
| Sucre | 5,3 | 15,9 | - | - | - | - |
| Cacao en poudre (De Zaan : D-11-A) | 1,5 | 4,5 | 1,5 | 4,5 | 1,5 | 4,5 |
| Carraghénanes granulacta SGI-1 ® | 0,02 | 0,06 | 0,02 | 0,06 | 0,02 | 0,06 |
| Aspartame | - | - | 0,02 | 0,06 | 0,02 | 0,06 |
| CPS | - | - | 7 | 20,51 | 7 | 21,1 |
| Lait demi-écrémé | 92,4 | 277,2 | 90,7 | 272,5 | 90,7 | 272 |
| Total | 100 | 300 | 100 | 300 | 100 | 300 |

2. MÉTHODE

- mélanger les produits secs et les disperser dans le lait
- mixer pendant 30 secondes

- chauffer 10 secondes à 75 °C
- refroidir jusqu'à température du frigo

3. RÉSULTATS

| Lait chocolaté | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| Goût | assez sucré chocolaté | assez sucré chocolaté | assez sucré chocolaté |
| Sensation en bouche | moins onctueux | plus onctueux | onctueux |
| Onctuosité | + | +++ | ++ |

4. CONCLUSIONS

On ne constate pas de différence de goût entre les trois préparations. La composition polydispersée de saccharides a un effet positif sur l'onctuosité du lait chocolaté (plus onctueux que la référence). Le lait chocolaté préparé avec la composition polydispersée de saccharides selon l'état de la technique est plus onctueuse que celle préparée avec la composition polydispersée selon l'invention.

*Application 2 : pudding à la vanille.*

1. INGRÉDIENTS

Préparation de 500 g de chaque pudding.

| Pudding vanille | 1 | | 2 | | 3 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | % | g | % | g | % | g |
| Poudre de lait écrémé | 10,1 | 50,5 | 10,1 | 50,5 | 10,1 | 50,5 |
| Sucre | 10 | 50 | - | - | - | - |
| Amidon de maïs (SF 6304 ® - Cerestar) | 1 | 5 | 1 | 5 | 1 | 5 |
| Stabilisant (Aubygel MR50 ® - Sanofi) | 0,1 | 0,5 | 0,1 | 0,5 | 0,1 | 0,5 |
| ß-carotène | 0,01 | 0,05 | 0,01 | 0,05 | 0,01 | 0,05 |
| Aspartame | - | - | 0,03 | 0,15 | 0,03 | 0,15 |
| Arôme vanille | 0,1 | 0,5 | 0,1 | 0,5 | 0,1 | 0,5 |
| CPS | - | - | 13,3 | 64,9 | 13,3 | 64,9 |
| Lait entier | 75,4 | 377 | 75,4 | 377 | 75,4 | 377 |
| Lait écrémé | 3,3 | 16,5 | - | - | - | - |
| Total | 100 | 500 | 100 | 500 | 100 | 500 |

2. MÉTHODE

- mélanger les produits secs sauf l'aspartame
- mélanger (mixer) les liquides dans le lait
- mélanger les produits secs et les liquides et mixer pendant 30 secondes
- chauffer pendant 30 minutes à 95 °C
- ajouter l'aspartame et bien mélanger
- verser dans différents petits pots
- refroidir, poser le couvercle et conserver à température du frigo

3. RÉSULTATS

| Pudding vanille | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| Texture (mesure de dureté en g) | plat, assez liquide (8) | plus ferme (11,5) | ferme (9,5) |
| Goût | plus sucré | moins sucré | moins sucré |
| Sensation en bouche | moins onctueux | onctueux | plus onctueux |
| Onctuosité | + | ++ | +++ |

4. CONCLUSIONS

Les puddings réalisés avec la composition polydispersée de saccharides ont une meilleure structure que la référence. Il sont plus fermes, plus solides. Le pudding réalisé selon l'état de la technique est plus ferme que celui contenant le produit de l'invention.

Les trois puddings sont tous fort crémeux, mais on note une différence entre eux : ceux contenant une composition polydispersée de fructanes sont plus crémeux que la référence, le pudding contenant le produit de l'invention est plus crémeux que celui réalisé avec une composition polydispersée selon l'état de la technique.

La différence au point de vue de la sensation en bouche est cependant très faible entre les deux dernières préparations.

*Application 3 : mousse au chocolat.*

1. INGRÉDIENTS

Préparation de 500 g de chaque mousse.

| Mousse au chocolat | 1 | | 2 | | 3 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | % | g | % | g | % | g |
| Poudre de lait écrémé | 7 | 35 | 7 | 35 | 7 | 35 |
| Sucre | 17,5 | 87,5 | - | - | - | - |
| Cacao en poudre (De Zaan, D-11-A) | 4 | 20 | 4 | 20 | 4 | 205 |
| Filgel (Quest 9323 ®) | 2,1 | 10,5 | 2,1 | 10,5 | 2,1 | 10,5 |
| Gélatine (Sanofi 80 Bls ®) | 0,5 | 2,5 | 0,5 | 2,5 | 0,5 | 2,5 |
| Aspartame | - | - | 0,05 | 0,25 | 0,05 | 0,25 |
| Crème (35% M. G.) | 6,3 | 31,5 | 6,3 | 31,5 | 6,3 | 31,5 |
| CPS | - | - | 23,3 | 113,7 | 23,3 | 117,1 |
| Lait écrémé | 62,6 | 313 | 56,8 | 286,7 | 56,8 | 283,4 |
| Total | 100 | 500 | 100 | 500 | 100 | 500 |

2. MÉTHODE

- mélanger les produits secs sauf l'aspartame
- mélanger (mixer) les liquides
- mélanger les secs et les liquides et mixer pendant 30 secondes
- chauffer pendant 30 secondes à 90 °C
- ajouter l'aspartame et mixer pendant 30 secondes
- refroidir et placer une nuit au frigo
- battre 15 minutes à l'aide d'un batteur Hobart avec "fouet"

3. RÉSULTATS

| Mousse au chocolat | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| Poids avant | 93,5 | 89 | 89 |
| Poids après | 44 | 35,5 | 37 |
| Overrun | 113 | 150 | 140 |

| Mousse au chocolat | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| Texture | plutôt liquide | assez ferme | assez ferme |
| Aspect | assez foncé | clair | clair |
| Goût | sucré | sucré, légèrement amer | sucré, légèrement amer |
| Sensation en bouche | visqueux, lourd | très onctueux | très onctueux |

4. CONCLUSIONS

La mousse au chocolat de référence présente une structure très visqueuse, mais les mousses réalisées avec la composition polydispersée de saccharides ne présentent aucune différence entre elles, que ce soit en ce qui concerne la sensation en bouche, le goût, la structure ou l'aspect.

*Application 4 : bio-yoghourt*

1. INGRÉDIENTS

Préparation de 500 g de chaque bio-yoghourt.

| Bio-yoghourt | 1 | | 2 | | 3 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | % | g | % | g | % | g |
| Lait entier | 94 | 470 | 90,5 | 452,9 | 90,5 | 452,4 |
| Lait écrémé en poudre | 1 | 5 | 1 | 5 | 1 | 5 |
| CPS | - | - | 3,5 | 17,1 | 3,5 | 17,6 |
| Ferment lactique | 5 | 25 | 5 | 25 | 5 | 25 |
| Total (g) | 100 | 500 | 100 | 500 | 100 | 500 |

2. MÉTHODE

- ajouter le lait entier en poudre et la composition polydispersée au lait
- mixer pendant 30 secondes
- chauffer pendant 8 minutes à 95 °C
- ajouter le ferment et bien mélanger
- mettre en pots et incuber à 40 °C jusqu'à pH 4,8
- refroidir rapidement et placer en chambre froide (24 heures)

3. RÉSULTATS

Les yoghourts ont été goûtés après 24 heures et 48 heures. Dans les deux cas, les résultats sont identiques.

| Bio-yoghourt | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| Structure | plus ou moins liquide | plus ferme | plus ferme |
| Texture | plus aqueux | plus onctueux | plus onctueux |
| Goût | le même partout | | |

4. CONCLUSIONS

Les yoghourts réalisés avec la composition polydispersée de saccharides sont meilleurs que la référence, plus fermes et plus onctueux. On ne note pas de différences entre les yoghourts réalisés avec les deux compositions polydispersées de fructanes.

*Application 5 : sorbet à la fraise*

1. INGRÉDIENTS

Préparation de 1000 g de chaque sorbet.

| Sorbet fraise | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| Fraises | 485 | 485 | 485 |
| Sucre | 200 | - | - |
| CPS | - | 265 | 265 |
| Stabilisateur (Grindsted-Fructodan SL64 ®) | 5 | 5 | 5 |
| Aspartame | - | 0,8 | 0,8 |
| Eau | 310 | 245 | 245 |
| Total (g) | 1000 | 1000 | 1000 |

2. MÉTHODE

- dégeler et écraser (mixer) les fraises
- ajouter les autres ingrédients (sauf l'aspartame) et

mixer pendant 20 minutes

- chauffer pendant 30 secondes à 90 °C, ajouter l'aspartame (vers 65-70 °C) et refroidir à 4 °C
- laisser reposer une nuit à 4 °C
- passer au Carpigiani (aération, congélation) et conditionner en petits pots
- placer au surgélateur pendant minimum 48 heures

3. RÉSULTATS

| Sorbet de fraises : overrun | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| Poids avant | 32 | 33 | 32,5 |
| Poids après | 20 | 20 | 19 |
| Overrun | 61 | 67 | 71 |

| Sorbet de fraises | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| Structure et goût | les mêmes partout | | |
| Sensation en bouche | plus aqueux | onctueux | onctueux |
| Onctuosité | + | ++ | ++ |

4. CONCLUSIONS

Les sorbets contenant la composition polydispersée de saccharides sont meilleurs que la référence; ils sont plus onctueux.

Les sorbets réalisés avec les deux compositions polydispersées de fructanes donnent des résultats comparables entre eux.

*Application 6 : cake*

1. INGRÉDIENTS

| Cake | 1<br>% | 2<br>% | 3<br>% |
|---|---|---|---|
| Farine | 23,73 | 23,73 | 23,73 |
| Oeufs | 24 | 24 | 24 |
| Beurre | 20 | 20 | 20 |
| CPS | 0 | 16 | 16 |
| Lactitol | 24 | 12 | 12 |
| Acésulfam K | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| Levure chimique V90 ® | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| Levure chimique BPpyro ® | 0,02 | 0,02 | 0,02 |
| Eau | 8 | 4 | 4 |
| Total | 100 | 100 | 100 |

2. MÉTHODE

- laisser ramollir le beurre
- ajouter les autres ingrédients
- mélanger les produits à l'aide d'un ustensile de cuisine pendant 3 minutes
- transvaser le tout dans un moule et enfourner à 210 °C

3. RÉSULTATS

Les trois cakes ont cuit ensemble durant 43 minutes. Les cakes contenant la composition polydispersée de saccharides sont meilleurs que la référence : ils ont une couleur brune. Par contre, le cake de référence a une couleur jaune pâle. Il y a une différence de couleur entre les deux cakes contenant de la CPS. Le cake préparé avec la CPS selon

l'invention a une couleur plus brune comparée à celle du cake préparé avec la CPS selon l'état de la technique. Les couleurs brunes sont beaucoup plus souhaitées dans ce genre de produits.

5

*Application 7 : sablé*

1. INGRÉDIENTS

| Sablé | 1<br>% | 2<br>% | 3<br>% |
|---|---|---|---|
| Farine | 45,35 | 45,35 | 45,35 |
| Oeufs | 7,6 | 7,6 | 7,6 |
| Beurre | 24,2 | 24,2 | 24,2 |
| CPS | 0 | 10,1 | 10,1 |
| Lactitol | 15 | 7,5 | 7,5 |
| Sucre vanillé | 0,8 | 0,8 | 0,8 |
| Acésulfam K | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| Levure | 0,6 | 0,6 | 0,6 |
| Sel | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| Eau | 6,1 | 3,5 | 3,5 |
| Total | 100 | 100 | 100 |

2. MÉTHODE

- laisser ramollir le beurre
- y ajouter les ingrédients
- mélanger à l'aide d'un ustensile de cuisine pour l'homogénéisation
- transvaser dans des moules
- cuire au four à 178 °C

3. RÉSULTATS

Les trois sablés ont été cuits ensemble pendant 14 minutes. Le sablé préparé sans la composition polydispersée de saccharides a une couleur très pâle. Les deux autres sablés sont agréablement colorés, le sablé contenant la CPS selon l'état de la technique a un effet moins prononcé.

**REVENDICATIONS.**

1. Procédé de préparation d'une composition polydispersée de saccharides pauvre en glucose (G), fructose (F) et saccharose (GF) comprenant au moins 93,5% en poids par matière sèche de fructo-oligosaccharides constitués de chaînes d'unités de fructose de la formule $F_m$ et de chaînes d'unités de fructose avec un glucose terminal de la formule $GF_n$, n et m étant compris entre 2 et 20, dans lequel on soumet une matière contenant des fructanes à une hydrolyse partielle, ladite matière contenant des fructanes d'un degré de polymérisation moyen supérieur ou égal à 7 et contenant tout au plus 3,5% en poids par matière sèche au total de glucose, fructose et saccharose.

2. Procédé de préparation selon la revendication 1, caractérisé en ce que la composition polydispersée de saccharides comprend au moins 95% en poids par matière sèche de fructo-oligosaccharides et que ladite matière contient tout au plus 2% en poids par matière sèche au total de glucose, fructose et saccharose au total.

3. Procédé de préparation selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que ladite matière contient tout au plus 1% en poids par matière sèche de glucose, fructose et saccharose au total.

4. Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'hydrolyse partielle comprend une hydrolyse enzymatique.

5. Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les fructanes sont du type inuline.

6. Procédé de préparation selon la revendication 5, caractérisé en ce que l'inuline est extraite de plantes,

de plantes génétiquement manipulées ou est produite par des micro-organismes.

**7.** Procédé de préparation selon la revendication 5, caractérisé en ce que l'hydrolyse est obtenue à l'aide d'une préparation enzymatique ayant une activité endo-inulase.

**8.** Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que les fructanes sont du type lévane.

**9.** Procédé de préparation selon la revendication 8, caractérisé en ce que le lévane est extrait de plantes, de plantes génétiquement manipulées ou est produite par des micro-organismes.

**10.** Procédé de préparation selon la revendication 9, caractérisé en ce que l'hydrolyse enzymatique est obtenue à l'aide d'une préparation enzymatique ayant une activité endo-levanase.

**11.** Composition polydispersée de saccharides pauvre en glucose (G), fructose (F) et saccharose (GF) comprenant au moins 93,5% en poids par matière sèche de fructo-oligosaccharides constitués de chaînes d'unités de fructose de la formule $F_m$ et de chaînes d'unités de fructose avec un glucose terminal de la formule $GF_n$, n et m étant compris entre 2 et 20, caractérisée en ce que les fructo-oligosaccharides comprennent plus de 43% en poids par matière sèche de fructo-oligosaccharides de la formule Fm.

**12.** Composition polydispersée de saccharides selon la revendication 11, caractérisée en ce que les fructo-oligosaccharides comprennent plus de 45% en poids par matière sèche de fructo-oligosaccharides de la formule $F_m$.

13. Composition polydispersée de saccharides selon la revendication 11 ou 12, caractérisée en ce qu'elle comprend moins de 5%, plutôt moins de 4%, en poids par matière sèche de fructose, de glucose et de saccharose.

14. Composition polydispersée de saccharides selon l'une quelconque des revendications 11 à 13, caractérisée en ce qu'elle comprend tout au plus 1% en poids par matière sèche de saccharose.

15. Produit d'alimentation humaine ou animale comprenant le composition polydispersée de saccharides selon l'une quelconque des revendications 10 à 13.

16. Produit d'alimentation selon la revendication 15, caractérisé en ce qu'il est un produit alimentaire fonctionnel.

17. Produit pharmaceutique comprenant la composition polydispersée de saccharides selon l'une quelconque des revendications 11 à 14.

18. Composition cosmétique comprenant la composition polydispersée de saccharides selon l'une quelconque des revendications 11 à 14.

Numero de la demande nationale

Office européen des brevets

# RAPPORT DE RECHERCHE

établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2 de la loi belge sur les brevets d'invention du 28 mars 1984

BO 6184
BE 9600676

## DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes | Revendication concernée | CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.Cl.6) |
|---|---|---|---|
| X | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN<br>vol. 18, no. 219 (C-1192), 20 Avril 1994<br>& JP 06 014792 A (MITSUI TOATSU CHEM INC), 25 Janvier 1994,<br>* abrégé *<br>& DATABASE WPI<br>Week 9403<br>Derwent Publications Ltd., London, GB;<br>AN 61482<br>* abrégé *<br>--- | 1-10 | C12P19/14<br>A23L1/0528 |
| Y | US 4 871 574 A (YAMAZAKI ET AL.) 3 Octobre 1989<br>* colonne 2, ligne 21 - colonne 3, ligne 8 *<br>--- | 1-18 | |
| Y | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN<br>vol. 12, no. 96 (C-484), 29 Mars 1988<br>& JP 62 228293 A (MITSUI TOATSU CHEM INC), 7 Octobre 1987,<br>& DATABASE WPI<br>Week 8704<br>Derwent Publications Ltd., London, GB;<br>AN 323413<br>* abrégé *<br>----- | 1-18 | |

DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.Cl.6)

C12P
A23L

| Date d'achèvement de la recherche | Examinateur |
|---|---|
| 11 Avril 1997 | LENSEN, H |

**CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES**

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : arrière-plan technologique
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons

& : membre de la même famille, document correspondant



EPO FORM 1503 03.82 (P04C48)

# ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET BELGE NO.

BO 6184
BE 9600676

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche visé ci-dessus.
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

11-04-1997

| Document brevet cité au rapport de recherche | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | Date de publication |
|---|---|---|---|
| US 4871574 A | 03-10-89 | CA 1324022 A | 09-11-93 |
| | | JP 1199554 A | 10-08-89 |