



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

| | | |
|--|----|---|
| (51) Classification internationale des brevets ⁶ : A23C 11/10, A23L 1/105 | A1 | (11) Numéro de publication internationale: WO 99/27795 (43) Date de publication internationale: 10 juin 1999 (10.06.99) |
|--|----|---|

| | |
|--|--|
| (21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/02569 (22) Date de dépôt international: 30 novembre 1998 (30.11.98) (30) Données relatives à la priorité: 97/15000 28 novembre 1997 (28.11.97) FR (71) Déposant (<i>pour tous les Etats désignés sauf US</i>): COMPAGNIE GERVAIS DANONE [FR/FR]; 126-130, rue Jules Guesde, F-92302 Levallois-Perret (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (<i>US seulement</i>): BOUFASSA, Corinne [FR/FR]; 25, rue Galliéni, F-91430 Igny (FR). TOURANCHEAU, Myriam [FR/FR]; 35, rue de Unna, F-91120 Palaiseau (FR). (74) Mandataires: VIALLE-PRESLES, Marie-José etc.; Cabinet Ores, 6, avenue de Messine, F-75008 Paris (FR). | (81) Etats désignés: AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CU, CZ, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KG, KP, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, SG, SI, SK, SL, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> |
|--|--|

(54) Title: METHOD FOR PREPARING FOOD PRODUCTS BY FERMENTING SOY MILK WITH STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS

(54) Titre: PREPARATION DE PRODUITS ALIMENTAIRES PAR FERMENTATION DE JUS DE SOJA PAR STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS

(57) Abstract

The invention concerns a method for obtaining food products by fermenting mixtures of soy milk and grain meal and/or almond milk with *Streptococcus thermophilus*, optionally combined with other lactic acid bacteria.

(57) Abrégé

L'invention est relative à l'obtention de produits alimentaires, par fermentation de mélanges de jus de soja et d'hydrolysats de céréales et/ou du lait d'amandes par *Streptococcus thermophilus*, éventuellement associée à d'autres bactéries lactiques.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publant des demandes internationales en vertu du PCT.

| | | | | | | | |
|-----------|---------------------------|-----------|---|-----------|--|-----------|-----------------------|
| AL | Albanie | ES | Espagne | LS | Lesotho | SI | Slovénie |
| AM | Arménie | FI | Finlande | LT | Lituanie | SK | Slovaquie |
| AT | Autriche | FR | France | LU | Luxembourg | SN | Sénégal |
| AU | Australie | GA | Gabon | LV | Lettonie | SZ | Swaziland |
| AZ | Azerbaïdjan | GB | Royaume-Uni | MC | Monaco | TD | Tchad |
| BA | Bosnie-Herzégovine | GE | Géorgie | MD | République de Moldova | TG | Togo |
| BB | Barbade | GH | Ghana | MG | Madagascar | TJ | Tadjikistan |
| BE | Belgique | GN | Guinée | MK | Ex-République yougoslave de Macédoine | TM | Turkménistan |
| BF | Burkina Faso | GR | Grèce | ML | Mali | TR | Turquie |
| BG | Bulgarie | HU | Hongrie | MN | Mongolie | TT | Trinité-et-Tobago |
| BJ | Bénin | IE | Irlande | MR | Mauritanie | UA | Ukraine |
| BR | Brésil | IL | Israël | MW | Malawi | UG | Ouganda |
| BY | Bélarus | IS | Islande | MX | Mexique | US | Etats-Unis d'Amérique |
| CA | Canada | IT | Italie | NE | Niger | UZ | Ouzbékistan |
| CF | République centrafricaine | JP | Japon | NL | Pays-Bas | VN | Viet Nam |
| CG | Congo | KE | Kenya | NO | Norvège | YU | Yougoslavie |
| CH | Suisse | KG | Kirghizistan | NZ | Nouvelle-Zélande | ZW | Zimbabwe |
| CI | Côte d'Ivoire | KP | République populaire démocratique de Corée | PL | Pologne | | |
| CM | Cameroun | KR | République de Corée | PT | Portugal | | |
| CN | Chine | KZ | Kazakstan | RO | Roumanie | | |
| CU | Cuba | LC | Sainte-Lucie | RU | Fédération de Russie | | |
| CZ | République tchèque | LI | Liechtenstein | SD | Soudan | | |
| DE | Allemagne | LK | Sri Lanka | SE | Suède | | |
| DK | Danemark | LR | Libéria | SG | Singapour | | |
| EE | Estonie | | | | | | |

PREPARATION DE PRODUITS ALIMENTAIRES PAR FERMENTATION DE JUS DE SOJA PAR STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS

Streptococcus thermophilus.

L'Invention est relative à des produits fermentés à base de matières premières végétales.

Il est connu d'utiliser des matières premières végétales, en particulier des céréales, en tant que substituts ou compléments de matières premières d'origine laitière dans la fabrication de produits alimentaires fermentés, dans le but d'associer les propriétés bénéfiques de ces produits végétaux à celles des ferments lactiques.

Par exemple, la Demande EP 0 622 024 décrit un produit destiné à l'alimentation infantile, constitué de 95% de yogourt et de 5% d'un mélange de bouillie de céréales (avoine, riz, et blé) et d'extrait de soja, préalablement pasteurisé, puis fermenté par *Bifidobacterium infantis* et éventuellement *Streptococcus thermophilus*, jusqu'à un pH d'environ 4,6 à 4,7. Il est indiqué que ce supplément fermenté améliore la valeur nutritionnelle et la digestibilité du yogourt, en apportant des nutriments essentiels à la croissance des jeunes enfants sous une forme directement assimilable, et qu'en outre la présence de l'extrait de soja favorise l'activité fermentaire de *Bifidobacterium infantis*, et améliore sa viabilité. Cependant, ce document ne donne aucune information précise sur la durée de conservation du supplément fermenté, ni sur celle du produit fini (supplément + yogourt), ni sur le taux effectif de survie des bactéries dans le supplément fermenté ou dans le produit final.

La Demande EP 0 568 530 décrit un produit préparé à partir de son d'avoine, mélangé à de l'eau et gélifié par un traitement thermique à 100°C pendant 20 min., puis fermenté par des bactéries lactiques. Le produit final obtenu est riche en fibres (β -glucanes), provenant du son d'avoine, et contient des lactobacilles vivants (10^5 à 10^8 UFC/g). Ce document indique également que le produit obtenu peut être conservé pendant plus de 2 semaines ; la teneur en acide lactique augmente pendant le stockage.

La Demande EP 0 415 941 décrit un produit liquide destiné à l'alimentation entérale par tube, ou à la préparation d'une boisson diététique. Ce produit est préparé à partir de farine d'avoine hydrolysée par une α -amylase et une β -glucanase, éventuellement additionnée de farine de soja pour la supplémenter en protéines et en matières grasses, puis fermentée par des lactobacilles, en particulier *Lactobacillus reuterii*. Le produit liquide obtenu contient des lactobacilles viables, et conserve ses propriétés pendant 8 jours environ.

Le principal problème qui se pose, dans la fabrication de ce type de produits est de concilier, pendant la fabrication, le conditionnement et le stockage, la survie la plus élevée possible des fermentations lactiques, et la conservation des qualités organoleptiques du produit. Par exemple, la post-acidification décrite dans la 5 Demande EP 0 568 530, qui témoigne de la viabilité des lactobacilles, peut constituer un inconvénient dans la mesure où elle entraîne une modification du goût du produit qui n'est pas forcément appréciée des consommateurs.

La présente Invention a pour but l'obtention de produits alimentaires à base de matières premières d'origine végétale fermentées par des bactéries lactiques, 10 capables de conserver à l'issue du conditionnement et du stockage, à la fois un taux de viabilité élevé des fermentations lactiques, et des qualités organoleptiques intactes.

Les Inventeurs ont constaté que certains fermentations lactiques, tels que *Streptococcus thermophilus*, présentent, lorsqu'ils sont utilisés pour fermenter des matières premières d'origine végétale, une post-acidification réduite tout en 15 conservant une croissance et une viabilité suffisantes. Ces fermentations sont donc particulièrement bien adaptés à l'obtention des produits alimentaires possédant les propriétés définies ci-dessus. Les inventeurs ont également constaté que l'utilisation en tant que matière première d'origine végétale, d'un mélange à base de jus de soja et d'un hydrolysat de céréale par au moins une amylase, et/ou de lait d'amande, 20 fournissait un substrat particulièrement favorable à une bonne croissance de ces fermentations, et permettait de conduire la fermentation dans des conditions optimales.

La présente Invention a pour objet un procédé d'obtention d'un produit alimentaire par fermentation lactique de matières premières d'origine végétale, lequel procédé est caractérisé en ce qu'il comprend :

- 25 - la préparation d'un mélange comprenant :
a) du jus de soja, et
b) un hydrolysat d'au moins une céréale par au moins une amylase,
et/ou du lait d'amande,
- la fermentation du mélange par un ferment lactique comprenant au
30 moins une souche de *Streptococcus thermophilus*.

Du jus de soja utilisable pour la mise en œuvre du procédé conforme à la présente invention est par exemple la préparation connue sous le nom de « *tonyu* » obtenue à partir de graines entières de soja, et qui fait l'objet d'une norme AFNOR (NF V 29-001). Brièvement, pour obtenir le *tonyu*, les graines de soja sont 35 dépelliculées, puis mélangées avec de l'eau et broyées à chaud (>85°C). Le broyat est

décanté de façon à séparer le résidu solide, dénommé « *okara* » du jus de soja qui constitue le *tonyu*. Le *tonyu* est ensuite stérilisé puis refroidi à 4°C.

L'hydrolysat de céréales utilisé pour la mise en œuvre du procédé conforme à la présente invention est obtenu par exemple à partir d'une farine ou de 5 flocons de céréales, hydrolysés, de manière connue en elle-même, par au moins une amylase, et de préférence par une β -amylase et une α -amylase. Si l'on souhaite obtenir un produit final riche en fibres, on peut utiliser un hydrolysat obtenu à partir d'une farine ou de flocons de céréale complète. On peut avantageusement utiliser un hydrolysat de riz, d'orge, de blé, ou d'avoine, ou un mélange de ceux-ci. En 10 particulier, l'utilisation d'un hydrolysat d'avoine permet d'obtenir un produit plus riche en β -glucanes. A titre d'exemple, un hydrolysat d'avoine utilisable dans le cadre de la présente invention est décrit dans la demande PCT WO 95/07628.

Pour des raisons de commodité, l'hydrolysat de céréales peut se présenter sous forme de poudre ; on peut alors soit additionner directement celle-ci au 15 jus de soja, soit reconstituer, préalablement au mélange avec le jus de soja, un hydrolysat liquide (également dénommé ci-après « jus de céréales hydrolysées »), comprenant de préférence entre 5 et 20% en poids de matière sèche, par addition d'une quantité d'eau appropriée.

Tout ou partie du jus de céréales hydrolysées peut être remplacé par 20 du lait d'amande.

L'utilisation du mélange jus de soja/constituant b) assure d'excellentes conditions de fermentation, qui permettent la formation d'un réseau régulier entre les molécules des différents constituants du produit, et lui confèrent une texture lisse et homogène.

Avantageusement, pour obtenir un produit final optimal tant sur le 25 plan des qualités organoleptiques que de la texture, le mélange jus de soja/constituant b) comprend entre 2,5% et 9%, et de préférence environ 5% (en poids) de matière sèche provenant du jus de soja. Ces dernières proportions donnent une matière première ayant des teneurs en macronutriments (protéines, lipides, glucides) 30 équivalentes à celles du lait demi-écrémé.

Si on le souhaite, on peut également ajouter au mélange des agents de texture, parmi ceux classiquement utilisés dans la fabrication des produits alimentaires, en particulier des produits laitiers fermentés. Par exemple, on peut utiliser de l'amidon, dans des proportions de 2 à 3% en poids.

On peut également ajouter un ou plusieurs antioxydants, par 35 exemple de la vitamine E, pour prévenir l'oxydation des acides gras polyinsaturés

présents dans les matières premières. Si on souhaite augmenter la teneur en fibres du produit, il est également possible d'ajouter à ce stade des fibres alimentaires, par exemple des fructooligosaccharides (FOS).

Après incorporation des différents constituants, le mélange est laissé 5 sous agitation (en général pendant 30 min. à 1 heure), afin de réhydrater les composants apportés sous forme solide, puis stérilisé (par exemple à 130°C pendant 2 à 20 s). On peut remplacer l'étape de stérilisation par un traitement thermique de pasteurisation (par exemple à 95°C, pendant 5 min. à 10 min.) ou par une upérisation par injection directe de vapeur dans le produit (par exemple à 135°C, pendant 3 s).

10 Préalablement à l'inoculation par les fermentes lactiques, le mélange est refroidi à une température de 25°C à 45°C environ.

Il est ensuiteensemencé avec un inoculum de bactéries lactiques, à une concentration bactérienne initiale d'au moins 10^4 à 10^5 UFC/g dans le milieu fermentaire.

15 Les Inventeurs ont en outre constaté que certaines souches de *Streptococcus thermophilus* tout en n'induisant qu'une post-acidification très faible, conservaient une excellente viabilité. Ces souches, dénommées « souches à post-acidification réduite » conviennent tout particulièrement pour la mise en œuvre de la présente invention ; elles peuvent être sélectionnées sur la base de leurs 20 caractéristiques de viabilité et de post-acidification, après culture sur un mélange 50/50 (v/v) des constituants a) et b) définis ci-dessus, et conservation et à une température d'environ 10°C.

Avantageusement, on choisira une souche présentant, dans ces conditions, les caractéristiques suivantes :

25 - la population bactérienne, au bout de 28 jours, (pour une inoculation initiale d'environ 10^4 à 10^5 UFC/g), est d'au moins 10^6 UFC/g, de préférence entre 10^7 et 10^9 UFC/g ;

- la différence entre le pH de décaillage et le pH au bout de 28 jours ($\Delta\text{pH J}_0 - \text{J}_{28}$) est inférieure ou égale à 0,2.

30 Une souche de *Streptococcus thermophilus* utilisable pour la mise en œuvre du procédé conforme à l'invention est par exemple la souche déposée, selon le Traité de Budapest, le 30 décembre 1994, auprès de la CNCM (Collection Nationale de Cultures de Microorganismes) tenue par l'Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, à Paris, sous le numéro I-1520.

35 Pour la mise en œuvre du procédé conforme à l'invention, il est également possible d'associer la ou les souches de *Streptococcus thermophilus* avec

au moins une souche de bactérie lactique choisie dans le groupe constitué par *Bifidobacterium* ssp., *Lactobacillus* ssp. (en particulier *L. plantarum*, *L. pentosus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. acidophilus*), *Lactococcus* ssp., *Pediococcus* ssp. etc. La souche ou les souches associées sont choisies en fonction de la saveur que l'on souhaite donner au produit final. Selon la souche associée, on peut observer une post-acidification plus importante que celle observée avec *Streptococcus thermophilus* seul ; cependant, le $\Delta\text{pH J}_0 - \text{J}_{28}$ demeure inférieur ou égal à 0,6.

5 Suivant le ferment utilisé, la fermentation est conduite pendant 3 à 24 heures, et arrêtée à un pH compris entre 4 et 5.

10 A la fin de la fermentation, le produit peut être lissé, pour lui donner la texture souhaitée. Par exemple, si l'on souhaite obtenir une boisson, le lissage est accentué pour augmenter le cisaillement et obtenir une texture fluide. Des agents de stabilisation peuvent également être ajoutés.

15 Le produit est ensuite refroidi à 20°C. On peut, si on le souhaite, ajouter du sucre, par exemple sous forme d'un sirop de sucre (saccharose, fructose, sucre de canne, miel), des arômes, des fruits (préparation de fruits, concentré, compote, jus, sirop), préalablement au conditionnement et au refroidissement à la température de conservation. Le produit peut être conservé à une température comprise de préférence entre 4°C et 15°C.

20 La présente invention a également pour objet les produits fermentés à base de matières premières végétales susceptible d'être obtenus par le procédé conforme à l'invention, tel que défini ci-dessus.

25 Par exemple, des produits conformes à l'invention, obtenus par fermentation avec une ou plusieurs souches de *Streptococcus thermophilus* à post-acidification réduite, éventuellement associées avec *Bifidobacterium*, présentent les caractéristiques suivantes, après 28 jours de conservation à une température d'environ 10°C :

- ils contiennent au moins 10^6 , de préférence entre 10^7 et 10^9 UFC/ml de *Streptococcus thermophilus* ;
- la différence entre leur pH en fin de fermentation, et leur pH après 28 jours de conservation à une température d'environ 10°C est inférieure à 0,2 unités pH.

30 Il apparaît donc que les ferments lactiques présents dans les produits obtenus conformément à l'invention conservent un taux de survie élevé, sans que ceci entraîne une diminution des qualités organoleptiques du produit, qui résulterait en particulier d'une post-acidification excessive.

Ces caractéristiques permettent en particulier une industrialisation facile, dans la mesure où le produit fini supporte des stockages tampon et des temps de conditionnement longs, sans dégradation de ses qualités.

La présente Invention sera mieux comprise à l'aide du complément 5 de description qui va suivre, qui se réfère à des exemples illustrant la préparation et les propriétés de produits fermentés conformes à l'Invention.

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

10 **EXEMPLE 1 : VIABILITÉ ET PROPRIÉTÉS DE POST-ACIDIFICATION DE *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* ; SÉLECTION D'UNE SOUCHE DE *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* A POST-ACIDIFICATION RÉDUITE.**

Viabilité et post-acidification de *Streptococcus thermophilus* sur substrat d'origine végétale

15 On reconstitue un jus d'avoine par mélange de poudre d'avoine hydrolysée (10% en poids du jus reconstitué) avec de l'eau. On mélange ce jus d'avoine reconstitué avec un poids égal de jus de soja. Le mélange est stérilisé puis refroidi à 42°C.

20 Pour tester la viabilité et la post-acidification dans le produit fermenté, le mélange estensemencé avec 10^5 UFC/g de la souche de *Streptococcus thermophilus* à tester.

Après fermentation à 38°C pendant 6 à 8 heures, le produit est refroidi à 20°C, et son pH est mesuré (pH de décaillage à J₀). Le produit est ensuite conservé à une température de 10°C pendant 28 jours.

25 Les résultats sont illustrés par le tableau I ci-après.

TABLEAU I

| Souche de <i>Streptococcus thermophilus</i> | pH décaillage (J ₀) | Post-acidification (pH J ₂₈) | Δ pH | Population bactérienne (J ₂₈) (UCF/g) |
|---|---------------------------------|--|-------|---|
| CNCM I-1520 | 4,77 | 4,72 | -0,05 | $7,5 \times 10^7$ |
| ST 1 | 4,76 | 4,52 | -0,24 | 1×10^8 |
| ST 2 | 4,74 | 4,62 | -0,12 | 4×10^5 |

Viabilité et post-acidification de *Streptococcus thermophilus* sur lait

A titre de comparaison, les mêmes expérimentations que ci-dessus ont été effectuées en utilisant comme substrat de fermentation, du lait additionné 30 d'extrait de levure (2 g/l d'autolysat de levure). Les résultats sont illustrés par le tableau II ci-dessous.

TABLEAU II

| Souche de <i>Streptococcus thermophilus</i> | pH décaillage (J ₀) | Post-acidification (pH J ₂₈) | Δ pH | Population bactérienne (J ₂₈) (UCF/g) |
|--|---------------------------------------|---|-------|---|
| CNCM I-1520 | 4,67 | 4,09 | -0,58 | 6×10^8 |
| ST 1 | 4,57 | 4,03 | -0,54 | $4,5 \times 10^8$ |
| ST 2 | 4,62 | 4,09 | -0,53 | 4×10^8 |

La post-acidification par les différentes souches de *Streptococcus thermophilus* est nettement plus importante dans le cas du lait que dans le cas d'un substrat d'origine végétale ; cette différence est particulièrement marquée dans le cas 5 de la souche CNCM I-1520. Sur le substrat d'origine végétale, cette souche présente à la fois une post-acidification réduite et une bonne viabilité, ce qui la rend particulièrement bien adaptée pour la mise en œuvre du procédé conforme à l'invention.

10 Viabilité et post-acidification de *Streptococcus thermophilus* associé à *Bifidobacterium*, sur substrat d'origine végétale

Les mêmes expérimentations sur substrat d'origine végétale que ci-dessus ont été effectuées enensemencant le substrat avec 10^5 UFC/g de la souche de *Streptococcus thermophilus* I-1520, et 10^6 UFC/g de *Bifidobacterium*. Les résultats sont illustrés par le tableau III ci-dessous.

15 TABLEAU III

| | pH décaillage (J ₀) | Post- acidification (pH J ₂₈) | Δ pH | Population bactérienne (J ₂₈) (UCF/g) | |
|--|---------------------------------------|---|-------|--|------------------------|
| | | | | CNCM I-1520 | <i>Bifidobacterium</i> |
| CNCM I-1520 + <i>Bifidobacterium</i> | 4,76 | 4,71 | -0,05 | 1×10^8 | 5×10^7 |

15 Ces résultats montrent que l'addition de *Bifidobacterium* n'augmente pas la post-acidification, et n'influe pas sur la viabilité de *Streptococcus thermophilus* (ou l'améliore légèrement).

EXEMPLE 2 : FERMENTATION D'UN MÉLANGE AVOINE/SOJA PAR UN FERMENT *S.THERMOPHILUS/BIFIDOBACTERIUM*

On reconstitue 48,90 kg de jus d'avoine hydrolysée en mélangeant 4,89 kg de poudre d'avoine hydrolysée dans 44,01 kg d'eau. On mélange ce jus d'avoine reconstitué avec 48,90 kg de jus de soja, et 2,50 kg d'amidon.

Le mélange avoine/soja à 50/50 donne une matière première ayant des teneurs en macronutriments équivalentes à celles du lait demi-écrémé (soit 26% de l'énergie apportée par les protéines, 36% par les lipides et 38% par les glucides).

On chauffe le mélange jusqu'à 95°C puis on monte la température à 130°C pendant quelques secondes pour stériliser le mélange. Après refroidissement à 42°C, on ensemence le mélange avec un ferment contenant 10^5 à 5×10^6 UFC/g de *Streptococcus thermophilus* (I-1520) et 10^6 à 10^7 UFC/g de *Bifidobacterium*.

5 Les figures 1 et 2 représentent les courbes de croissance respectives de la souche de *S. thermophilus* CNCM I-1520, et de *Bifidus* spp., au cours de la fermentation du mélange après ensemencement avec 4×10^6 UFC/g de *S. thermophilus*, et 10^7 UFC/g de *Bifidus* spp (en abscisse : temps de fermentation ; en ordonnée : population bactérienne).

10 La figure 3 représente l'acidification du mélange au cours de la fermentation après ensemencement avec 4×10^6 UFC/g de *S. thermophilus*, et 10^7 UFC/g de *Bifidus* spp. En abscisse : temps de fermentation ; en ordonnée : concentration en acide lactique (◆) et en acide acétique (■).

15 On conduit la fermentation à 38°C pendant 6 à 8 heures jusqu'à atteindre un pH compris entre 4,7 et 4,8. Le produit est alors décaillé à 20°C puis lissé sur une vanne de lissage à un débit de 140 à 240 l/heure. Le produit est ensuite conditionné en pots de 125 g.

20 Le produit obtenu est lisse et souple, de couleur jaune pâle ; il ressemble à un yogourt brassé, il a une texture onctueuse, très légère en bouche. Le goût frais et léger rappelle l'avoine ; les caractéristiques gustatives du soja sont peu perceptibles. Il contient 0,3% (en poids) de β-glucanes, et ne comprend ni cholestérol ni lactose. Il contient des acides gras polyinsaturés (acide linoléique C18:2 majoritaire, et α-linolénique C18:3).

25 Ce produit est stable et peut être conservé au moins 28 jours à une température comprise entre 4 et 10°C.

Le produit a été conservé à 10°C pendant 28 jours. On n'a observé ni exsudation, ni décantation ou perte de texture.

30 Les mesures de pH faites à J₁ et J₂₈ montrent un ΔpH de 0,13. A J₇ on dénombre 3×10^8 UFC/g streptocoques et $1,1 \times 10^8$ UFC/g bifidobactéries. A J₂₈, la population est de 10^8 UFC/g streptocoques et $8,5 \times 10^7$ UFC/g bifidobactéries.

EXEMPLE 3 : MÉLANGE AVOINE/SOJA ; FERMENT *S. THERMOPHILUS/BIFIDOBACTERIUM* ; PRODUIT AROMATISÉ AUX FRUITS

35 On procède comme décrit dans l'exemple 2, et juste avant le conditionnement on réalise un mélange comportant 70 à 75% (en poids) de masse

blanche, 24% (en poids) de préparation de fruits et 1 à 6% (en poids) de sirop de sucre suivant la variété de fruit utilisée. Les préparations de fruits pruneau, figue, mangue, cassis et cerise peuvent être citées à titre d'exemple, mais d'autres sont utilisables. Des essais de conservation des produits sont faits jusqu'à 28 jours et 4 et à 10°C. Il y a peu 5 de différence entre une conservation à 4°C ou une conservation à 10°C. Le $\Delta\text{pH}_{\text{max}}$ dans les 2 cas est de 0,08.

EXEMPLE 4 : MÉLANGE AVOINE/SOJA ; FERMENT YOGHOURT

On procède comme décrit dans l'exemple 2, mais on ensemence le mélange de départ avec un ferment contenant *Streptococcus thermophilus* et 10 *Lactobacillus bulgaricus* à un taux de 10^5 à 10^6 UFC/g. La fermentation est effectuée à 43°C pendant 5 à 6 heures jusqu'à atteindre un pH compris entre 4,5 et 5. Le produit présente une texture lisse et brillante et un goût de flocons d'avoine. Les suivis de pH montrent à J₂₈ un $\Delta\text{pH}_{\text{max}}$ de 0,2.

**EXEMPLE 5 : MÉLANGE AVOINE/SOJA, FERMENT
S.THERMOPHILUS/L. PLANTARUM.**

On procède comme décrit dans l'exemple 2, mais on ensemence le mélange de départ avec un ferment contenant *Streptococcus thermophilus* 10^5 à 20 *Lactoacillus plantarum* 10^6 à 10^7 UFC/g. Le mélange ensemencé est conditionné dans des pots de 125 g. La fermentation est effectuée à 38°C pendant 6 à 7 heures jusqu'à atteindre un pH compris entre 4,5 et 5. Le produit présente une texture plus légère à la cuillère mais il est plus texturé en bouche que celui de l'exemple 2 ; il est d'autre part plus aromatique et a un goût de crème. On dénombre $7,5 \times 10^8$ UFC/g streptocoques et $6,5 \times 10^7$ UFC/g lactobacilles à J₂₈.

**EXEMPLE 6 : MÉLANGE AVOINE/SOJA ; FERMENT
S. THERMOPHILUS/L. CASEI.**

On procède comme décrit dans l'exemple 5, et on remplace 30 *Lactobacillus plantarum* par *Lactobacillus casei*. La fermentation est arrêtée à un pH compris entre 4,5 et 5 au bout de 4 à 5 heures. Le produit est fluide, avec un goût typé. Les dénombremens montrent une population de streptocoques de 8×10^8 UFC/g et 1×10^8 UFC/g lactobacilles à J₂₈.

**EXEMPLE 7 : MÉLANGE AMANDE/SOJA ; FERMENT
S. THERMOPHILUS/L. CASEI/BIFIDOBACTERIUM.**

On procède comme décrit dans l'exemple 2, mais on remplace le jus 35 d'avoine hydrolysée reconstitué par un lait d'amande et on ensemence avec un ferment contenant *Streptococcus thermophilus* 10^5 à 10^6 UFC/g, *Lactobacillus casei*

10^6 à 10^7 UFC/g et *Bifidobacterium* à 10^6 à 10^7 UFC/g. Le produit est fermenté à 38°C pendant 4 à 5 heures. La fermentation est arrêtée à un pH compris entre 4,6 et 4,8. Le produit est de couleur blanche proche de celle du lait entier avec un goût d'amande typique, acidulé très agréable.

5 **EXEMPLE 8 : BOISSON : MÉLANGE AVOINE OU AMANDE OU RIZ/SOJA,
FERMENT YOGHOURT**

On mélange 1 l de jus d'avoine hydrolysée reconstitué ou 1 l de lait d'amande ou 1 l de jus de riz hydrolysé avec 1 l de jus de soja. Dans le cas des boissons, on ne met pas d'amidon dans le mélange de départ, mais on peut ajouter un agent de stabilisation à base de protéines et de maltodextrines de riz, dans le mélange avec jus de riz. Le procédé de l'exemple 2 est utilisé avec une fermentation conduite à 43°C pendant 5 à 15 heures. Elle est arrêtée à un pH compris entre 4,2 et 5,2 suivant les substrats de départ.

10 Les produits ainsi obtenus peuvent être aromatisés, ou mélangés avec des sirops de sucre (5 à 8% en poids) ou différents jus de fruits (25 à 30% en poids).

REVENDICATIONS

- 1) Procédé d'obtention d'un produit alimentaire par fermentation lactique de matières premières d'origine végétale, lequel procédé est caractérisé en ce qu'il comprend :
 - 5 - la préparation d'un mélange comprenant :
 - a) du jus de soja, et
 - b) un hydrolysat d'au moins une céréale par au moins une amylase, et/ou du lait d'amande,
 - la fermentation du mélange par un ferment lactique comprenant au moins une souche de *Streptococcus thermophilus*.
- 10 2) Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le ferment lactique comprend au moins une souche de *Streptococcus thermophilus* à post-acidification réduite
- 15 3) Procédé selon une quelconque des revendications 1 ou 2 caractérisé en ce que l'on utilise au moins un hydrolysat d'une céréale choisie dans le groupe constitué par le riz, l'orge, le blé, et l'avoine.
- 4) Procédé selon une quelconque des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que le mélange : jus de soja/constituant b) comprend entre 2,5 et 9%, et de préférence environ 5% en poids de matière sèche provenant du jus de soja.
- 20 5) Procédé selon une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le ferment lactique comprend également au moins une souche de bactérie lactique choisie dans le groupe constitué par *Bifidobacterium* ssp., *Lactobacillus* ssp. *Lactococcus* ssp., *Pediococcus* ssp. etc.
- 6) Produit fermenté à base de matières premières végétales, caractérisé en ce qu'il est susceptible d'être obtenu par un procédé selon une quelconque des revendications 1 à 5.
- 25 7) Produit fermenté selon la revendication 6, caractérisé en ce qu'il est susceptible d'être obtenu par un procédé selon la revendication 2, et en ce que :
 - après 28 jours de conservation à une température d'environ 10°C, il contient au moins 10^6 , de préférence entre 10^7 et 10^9 UFC/ml de *Streptococcus thermophilus* ;
 - la différence entre son pH en fin de fermentation et son pH après 28 jours de conservation à une température d'environ 10°C est inférieure à 0,2 unités pH.

1 / 3

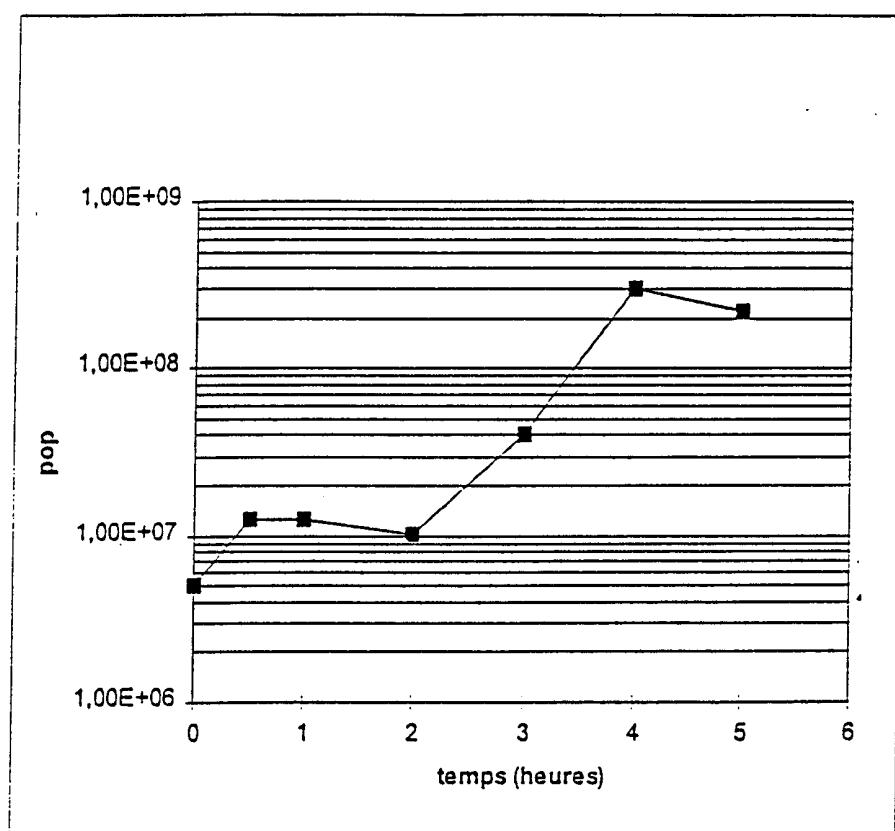


Fig. 1

2 / 3

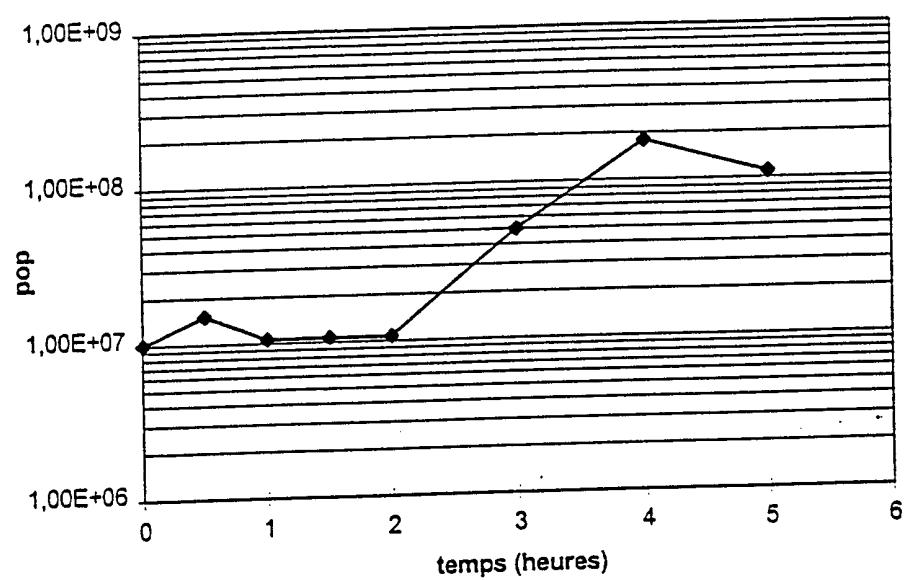


Fig. 2

3 / 3

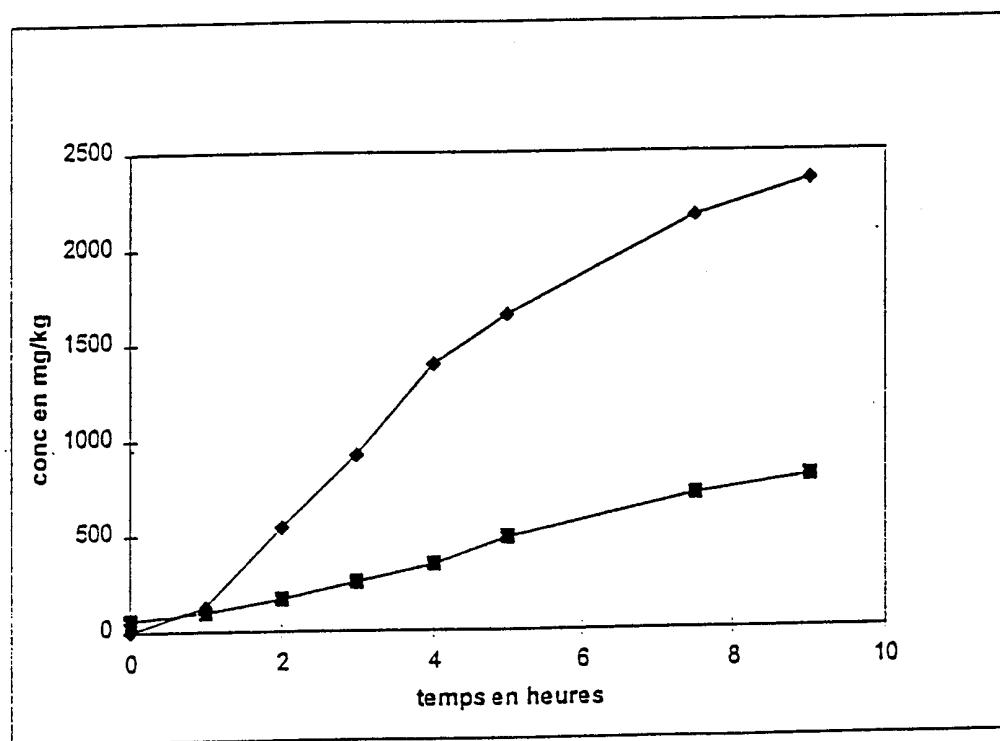


Fig. 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Ind. National Application No.

PCT/FR 98/02569

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 A23C11/10 A23L1/105

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 A23C A23L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category ° | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| X | <p>DATABASE WPI Section Ch, Week 9402 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D13, AN 94-014011 XP002075502 & KR 9 305 198 B (KOREA FOOD RES INST) see abstract</p> <p style="text-align: center;">---</p> | 1,3-6 |
| A | <p>K. SHIRAI: "Production of a yogurt-like product from plant foodstuffs and whey" JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE, vol. 59, 1992, pages 199-204, XP000292149 BARKING GB see page 200; table 2</p> <p style="text-align: center;">---</p> | 1,5-7 |

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified).

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention.

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"8" document member of the same patent family

| | |
|---|--|
| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report |
| 5 March 1999 | 22/03/1999 |
| Name and mailing address of the ISA | Authorized officer |
| European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016 | Desmedt, G |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 98/02569

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|--|-----------------------|
| A | EP 0 622 024 A (SITIA-YOMO) 2 November 1994 cited in the application see the whole document --- | 1,3-6 |
| A | EP 0 415 941 A (PROBI AB) 13 March 1991 cited in the application see the whole document --- | 1 |
| A | ANKENMAN GRANATA L ET AL: "IMPROVED ACID FLAVOR AND VOLATILE COMPOUND PRODUCTION IN A HIGH PROTEIN AND FIBER SOYMILK YOGHURT-LIKE PRODUCT" JOURNAL OF FOOD SCIENCE, vol. 61, no. 2, 1 March 1996, pages 331-336, XP000589501 see page 331 --- | 1 |
| A | MURTI T W ET AL: "BACTERIAL GROWTH AND VOLATILE COMPOUNDS IN YOGHURT-TYPE PRODUCTS FROM SOYMILK CONTAINING BIFIDOBACTERIUM SSP" 1 January 1993 , JOURNAL OF FOOD SCIENCE, VOL. 58, NR. 1, PAGE(S) 153 - 157 XP000356108 see page 153 --- | 1,5 |
| A | CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 106, no. 5, 2 February 1987 Columbus, Ohio, US; abstract no. 31611, XP002075501 see abstract & JP 61 044450 B (KIBUN CO) --- | 1 |
| A | EP 0 111 420 A (SUMITOMO CHEMICAL CO) 20 June 1984 see example 4 --- | 1 |
| A | DE 24 06 600 A (CENTRE FOR INDUSTRIAL RESEARCH) 29 August 1974 see claims 1,6 ----- | 1 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

| |
|------------------------------|
| International Application No |
| PCT/FR 98/02569 |

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | | Publication date |
|--|------------------|-------------------------|---|------------------|
| EP 622024 | A 02-11-1994 | IT 1271444 | B | 28-05-1997 |
| EP 415941 | A 13-03-1991 | SE 463796 | B | 28-01-1991 |
| | | AU 620858 | B | 27-02-1992 |
| | | AU 3298089 | A | 05-10-1989 |
| | | DE 68907057 | T | 20-01-1994 |
| | | DK 214790 | A | 07-09-1990 |
| | | FI 98192 | B | 31-01-1997 |
| | | JP 8008846 | B | 31-01-1996 |
| | | JP 3505520 | T | 05-12-1991 |
| | | NO 178321 | B | 27-11-1995 |
| | | SE 8800822 | A | 10-09-1989 |
| | | WO 8908405 | A | 21-09-1989 |
| | | US 5190755 | A | 02-03-1993 |
| EP 111420 | A 20-06-1984 | JP 59102354 | A | 13-06-1984 |
| | | JP 59102355 | A | 13-06-1984 |
| | | AR 231374 | A | 30-11-1984 |
| | | AU 557264 | B | 18-12-1986 |
| | | AU 2199383 | A | 14-06-1984 |
| | | CA 1204324 | A | 13-05-1986 |
| | | US 4563356 | A | 07-01-1986 |
| | | ZA 8308866 | A | 25-07-1984 |
| DE 2406600 | A 29-08-1974 | AT 338081 | B | 25-07-1977 |
| | | AT 127174 | A | 15-11-1976 |
| | | US 3950544 | A | 13-04-1976 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

D 1de Internationale No

PCT/FR 98/02569

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 6 A23C11/10 A23L1/105

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 A23C A23L

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie ^o | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|------------------------|---|-------------------------------|
| X | <p>DATABASE WPI Section Ch, Week 9402 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D13, AN 94-014011 XP002075502 & KR 9 305 198 B (KOREA FOOD RES INST) voir abrégé</p> <p>---</p> | 1, 3-6 |
| A | <p>K. SHIRAI: "Production of a yogurt-like product from plant foodstuffs and whey" JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE., vol. 59, 1992, pages 199-204, XP000292149 BARKING GB voir page 200; tableau 2</p> <p>---</p> <p>-/-</p> | 1, 5-7 |

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

^o Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

5 mars 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

22/03/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Desmedt, G

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR 98/02569

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|--|-------------------------------|
| A | EP 0 622 024 A (SITIA-YOMO) 2 novembre 1994 cité dans la demande voir le document en entier --- | 1, 3-6 |
| A | EP 0 415 941 A (PROBI AB) 13 mars 1991 cité dans la demande voir le document en entier --- | 1 |
| A | ANKENMAN GRANATA L ET AL: "IMPROVED ACID FLAVOR AND VOLATILE COMPOUND PRODUCTION IN A HIGH PROTEIN AND FIBER SOYMILK YOGHURT-LIKE PRODUCT" JOURNAL OF FOOD SCIENCE, vol. 61, no. 2, 1 mars 1996, pages 331-336, XP000589501 voir page 331 --- | 1 |
| A | MURTI T W ET AL: "BACTERIAL GROWTH AND VOLATILE COMPOUNDS IN YOGHURT-TYPE PRODUCTS FROM SOYMILK CONTAINING BIFIDOBACTERIUM SSP" 1 janvier 1993 , JOURNAL OF FOOD SCIENCE, VOL. 58, NR. 1, PAGE(S) 153 - 157 XP000356108 voir page 153 --- | 1, 5 |
| A | CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 106, no. 5, 2 février 1987 Columbus, Ohio, US; abstract no. 31611, XP002075501 voir abrégé & JP 61 044450 B (KIBUN CO) --- | 1 |
| A | EP 0 111 420 A (SUMITOMO CHEMICAL CO) 20 juin 1984 voir exemple 4 --- | 1 |
| A | DE 24 06 600 A (CENTRE FOR INDUSTRIAL RESEARCH) 29 août 1974 voir revendications 1,6 ----- | 1 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Document de recherche internationale No

PCT/FR 98/02569

| Document brevet cité au rapport de recherche | | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | | Date de publication |
|---|---|------------------------|---|------------|------------------------|
| EP 622024 | A | 02-11-1994 | IT | 1271444 B | 28-05-1997 |
| EP 415941 | A | 13-03-1991 | SE | 463796 B | 28-01-1991 |
| | | | AU | 620858 B | 27-02-1992 |
| | | | AU | 3298089 A | 05-10-1989 |
| | | | DE | 68907057 T | 20-01-1994 |
| | | | DK | 214790 A | 07-09-1990 |
| | | | FI | 98192 B | 31-01-1997 |
| | | | JP | 8008846 B | 31-01-1996 |
| | | | JP | 3505520 T | 05-12-1991 |
| | | | NO | 178321 B | 27-11-1995 |
| | | | SE | 8800822 A | 10-09-1989 |
| | | | WO | 8908405 A | 21-09-1989 |
| | | | US | 5190755 A | 02-03-1993 |
| EP 111420 | A | 20-06-1984 | JP | 59102354 A | 13-06-1984 |
| | | | JP | 59102355 A | 13-06-1984 |
| | | | AR | 231374 A | 30-11-1984 |
| | | | AU | 557264 B | 18-12-1986 |
| | | | AU | 2199383 A | 14-06-1984 |
| | | | CA | 1204324 A | 13-05-1986 |
| | | | US | 4563356 A | 07-01-1986 |
| | | | ZA | 8308866 A | 25-07-1984 |
| DE 2406600 | A | 29-08-1974 | AT | 338081 B | 25-07-1977 |
| | | | AT | 127174 A | 15-11-1976 |
| | | | US | 3950544 A | 13-04-1976 |