



SPF Economie, PME, Classes
Moyennes & Energie
Office de la Propriété intellectuelle

1022006 B1

Date de délivrance : 03/02/2016

BREVET D'INVENTION

Date de priorité : 24/06/2014

Classification internationale : A23L 1/308, A23L 1/015, C08B 37/00

Numéro de dépôt : 2014/0598

Date de dépôt : 04/08/2014

Titulaire :

COSUCRA GROUPE WARCOING S.A.
7740, WARCOING
Belgique

Inventeur :

Denis Robin
7387 Erquennes
Belgique

Durieux Alain
1083 Bruxelles
Belgique

Fougnes Christian
7600 Péruwelz
Belgique

PROCEDES ET COMPOSITIONS POUR LE TRAITEMENT DE FIBRES ALIMENTAIRES

La présente invention concerne un procédé pour traiter une composition comprenant du fructose et du saccharose, comprenant l'étape d'incubation d'une composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, avec au moins une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces*, et *Kluyveromyces*. L'incubation avec ces levures conduit à la décomposition des sucres libres de sorte que des compositions de fructose purifiées soient obtenues.

Image

BE 2014/0598

FIGURES

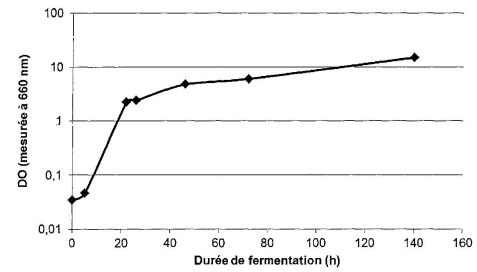


FIG. 1

PROCÉDÉS ET COMPOSITIONS POUR LE TRAITEMENT DE FIBRES ALIMENTAIRES

DOMAINE DE L'INVENTION

La présente invention concerne des procédés et des compositions pour traiter des fibres alimentaires. En particulier, la présente invention concerne des procédés de purification de compositions contenant du fructane au moyen de l'incubation de telles compositions avec une levure pour effectuer la dégradation et l'élimination des sucres libres.

CONTEXTE DE L'INVENTION

Les fibres alimentaires sont des glucides comestibles, qui ne sont ni digérés, ni absorbés dans l'intestin grêle humain et qui ont été obtenus à partir de matériau alimentaire par des moyens physiques, enzymatiques ou chimiques et qui ont un effet physiologique bénéfique. En général, les fibres alimentaires traversent une grande partie du système digestif en restant intactes et peuvent être totalement ou partiellement fermentées par le microbiote intestinal.

Les fibres alimentaires peuvent être hydrosolubles ou insolubles dans l'eau. Les fibres alimentaires hydrosolubles comprennent les fructanes. Les fructanes sont essentiellement des polymères composés de résidus fructose, terminant ou non par un motif glucose à ce qui serait sinon l'extrémité réductrice. La position de liaison des résidus fructose détermine le type du fructane. La liaison est normalement située à un des deux hydroxyles primaires (OH-1 ou OH-6), et il existe deux types de base de fructane simple : l'inuline (les résidus fructosyle sont liés par des liaisons β -2,1) et le lévane (les résidus fructosyle sont liés par des liaisons β -2,6). Les fructanes peuvent être trouvés dans de nombreuses plantes ainsi que des micro-organismes, où ils sont stockés sous forme d'énergie. Par exemple, l'inuline est produite dans des quantités particulièrement élevées dans des racines de chicorée.

La production industrielle d'inuline à partir de, par exemple, racine de chicorée met typiquement en œuvre l'extraction par de l'eau chaude. Ce procédé produit un extrait riche en inuline. Cependant, des sucres libres (par exemple, le glucose, le fructose et le saccharose) sont également co-extraits. Un extrait riche en inuline contient typiquement environ 70 à 85 % en poids d'inuline et 5 à 13 % en poids de sucres libres, ainsi que 10 à 17 % en poids d'autres impuretés (par exemple, des sels, des protéines, etc.) sur la base de la matière sèche. La composition exacte, par exemple, d'extraits de chicorée riches en inuline, varie cependant et, par exemple, dépend des conditions de culture, de la date de récolte, de la variété de chicorée, etc.

Le procédé pour purifier l'extrait riche en inuline contient typiquement plusieurs étapes, comprenant, par exemple, une séparation solide/liquide, l'échange d'ions, la filtration sur charbon actif, etc., dans lesquelles la majorité des impuretés sont éliminées, et une composition riche en inuline est obtenue. Cependant, les sucres libres qui ont une structure et/ou des caractéristiques chimiques très similaires à celles de fibres telles que les fructanes, en particulier l'inuline, ne sont généralement pas éliminés de la composition riche en inuline, et ceux-ci peuvent représenter entre 6 et 16 % de la matière sèche (sur la base de la matière sèche, par exemple 1 à 2 % en poids de glucose, 1,5 à 7 % en poids de fructose, et 3,5 à 7 % en poids de saccharose dans des compositions riches en inuline provenant de racines de chicorée).

Bien qu'ils soient similaires sur le plan physico-chimique et structural à des fibres, telles que les fructanes, ces sucres libres sont cependant distingués par leurs propriétés nutritives, compte tenu de leur digestibilité qui confère ainsi une valeur calorique élevée contrairement aux fibres. Des teneurs élevées en impuretés sucres libres dans des compositions de fibres alimentaires est par conséquent un problème, par exemple, pour les diabétiques. De ce point de vue, il est fortement conseillé de réduire au minimum les teneurs de tels sucres libres, dans la composition riche en inuline. De plus, d'un point de vue technique, les fibres produites de façon industrielle sont souvent fournies aux clients sous forme de sirops ou de poudres. Dans ce dernier cas, la dernière étape du procédé peut mettre en œuvre un séchage par pulvérisation. L'efficacité de cette technique connue diminue lorsque la teneur en sucres libres augmente, ceux-ci étant plus « difficiles à sécher » en raison de leur hygroscopicité relative (principalement le fructose), de sorte que l'augmentation de l'élimination des sucres libres, et en particulier du fructose, avant le séchage a non seulement des avantages nutritionnels, mais également techniques.

Il existe plusieurs façons de séparer les sucres libres des extraits de fibres, par exemple, la précipitation fractionnée basée sur la solubilité relative ou la chromatographie. Cependant, ces techniques de séparation physico-chimiques sont très coûteuses et ont une performance d'échelle limitée. La technique de précipitation fractionnée est utilisée industriellement pour la production de fibres qui contiennent des quantités réduites de sucres libres. Cette technique est basée sur la solubilité différentielle de molécules de glucides de différents poids moléculaires. La chromatographie à l'échelle industrielle permet la séparation de sucres libres sur différentes gammes de types de fibres et l'efficacité est plus élevée que dans le cas de la précipitation fractionnée, mais reste faible. Dans tous les cas, il n'est pas possible de séparer les sucres libres sans subir une perte de fibres.

Compte tenu de ce qui précède, il existe encore un besoin de développer des procédés alternatifs ou améliorés pour éliminer les sucres libres de compositions de fibres alimentaires, en particulier des compositions de fructane, telles que des compositions d'inuline. Par conséquent, il est un des objets de la présente invention de résoudre ou
5 améliorer au moins un des inconvénients de l'art antérieur, ou de proposer une alternative utile.

RÉSUMÉ DE L'INVENTION

Les présents inventeurs ont, de manière inattendue, découvert que l'efficacité, le
10 rendement, la productivité, et/ou la vitesse de transformation ou purification de fructane peuvent être nettement améliorés par incubation d'une composition comprenant du fructane et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, avec une ou plusieurs espèces de levure, en particulier une espèce de levure choisie dans le groupe comprenant ou constitué ou essentiellement constitué de *Saccharomyces* et
15 *Kluyveromyces*. Il a été observé que ces levures permettent une suppression, élimination, réduction, ou fermentation rapide des sucres libres (en particulier du glucose, du fructose et du saccharose) d'une composition comprenant du fructane et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, avec une spécificité élevée pour les sucres libres par rapport au fructane, de préférence l'inuline. En conséquence, l'efficacité de la
20 purification de fructane, de préférence la purification d'inuline, est augmentée et le rendement final de fructane, de préférence l'inuline, est augmenté par rapport au traitement d'une composition comprenant du fructane et du saccharose sans ces une ou plusieurs levures. En tant que tel, le présent procédé réduit les pertes de fructane, de préférence les pertes d'inuline, pendant le traitement, tel que la purification, d'une telle
25 composition comprenant du fructane et du saccharose, telle que des extraits de chicorée. Selon les procédés tels que présentement décrits, le traitement (ou la purification) d'une composition comprenant du fructane et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, conduit à une réduction d'au moins 10 % des concentrations de sucres libres par rapport à des compositions comprenant du fructane et du saccharose qui n'ont pas
30 été traitées selon les procédés de la présente invention. Dans certains modes de réalisation, la composition à la fin du processus peut être, par exemple, exempte de saccharose. Un équilibre particulièrement avantageux entre, d'une part, la spécificité des espèces de levure décrites pour enlever, réduire, éliminer et/ou fermenter les sucres libres, en particulier le saccharose, mais également le fructose et le glucose, sans
35 dégradation indésirable de fructane, de préférence l'inuline, et d'autre part la vitesse de

retrait, réduction, élimination et/ou fermentation de sucres libres a été observé par les présents inventeurs.

La présente invention, dans un aspect, concerne donc un procédé pour transformer, purifier, traiter et/ou stocker une composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, comprenant l'incubation d'une levure choisie dans le groupe comprenant ou constitué ou essentiellement constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* avec une telle composition. Dans un autre aspect, la présente invention concerne un procédé pour enlever, éliminer, réduire, et/ou fermenter des sucres libres (en particulier de glucose, fructose et saccharose) d'une composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, comprenant l'étape d'incubation d'une telle composition avec une levure choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces*.

De préférence, la présente invention concerne un procédé pour traiter une composition comprenant du fructose et du saccharose, comprenant les étapes de (a) fourniture d'une composition comprenant du fructose et du saccharose, ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprenant au moins 30 % en poids (% p/p) de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition ; et (b) incubation de ladite composition comprenant du fructose et du saccharose avec au moins une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* ; jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 10 % du poids initial de saccharose dans ladite composition soit obtenue.

La présente invention concerne en outre une composition comprenant du fructose, du saccharose et au moins une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis*, et *Saccharomyces boulardii*, ladite composition comprenant au moins 30 % en poids (% p/p) de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition.

La présente invention concerne en outre une levure déposée dans les Collections coordonnées belges de micro-organismes (BCCM) avec le numéro d'ordre MUCL 55125.

La présente invention concerne en outre l'utilisation d'une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* pour réduire la quantité de saccharose dans une composition comprenant du saccharose et au moins 30 % en poids (% p/p) de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition.

Les revendications indépendantes et dépendantes décrivent des caractéristiques particulières et préférées de l'invention. Les caractéristiques des revendications

dépendantes peuvent être combinées avec des caractéristiques des revendications indépendantes ou d'autres revendications dépendantes le cas échéant. Les revendications annexées sont également explicitement incluses dans la description.

Les caractéristiques, composants et avantages ci-dessus et autres de la présente invention apparaîtront à la lecture des descriptions détaillées faites ci-après, en référence
5 aux dessins annexés, qui illustrent, à titre d'exemples, les principes de l'invention. Les figures de référence mentionnées ci-dessous désignent les dessins annexés.

BRÈVE DESCRIPTION DES FIGURES

Figure 1 : représente un graphique de la croissance (mesurée par la densité optique à
10 660 nm) au cours du temps à 30 °C de *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70 incubé avec la composition B1.

Figure 2 : représente un graphique de la croissance (mesurée par la densité optique à 660 nm) au cours du temps à 30 °C de *Kluyveromyces lactis* CBS 2103 incubé avec la composition B2.

15 **Figure 3** : représente un graphique de la croissance (mesurée par la densité optique à 660 nm) au cours du temps à 30 °C de *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495 incubé avec la composition B3.

Figure 4 : représente un graphique de la croissance (mesurée par la densité optique à 660 nm) au cours du temps à 30 °C de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL
20 31491 incubé avec la composition B4.

Figure 5 : représente des graphiques de la croissance (mesurée par la densité optique à 660 nm) au cours du temps à 30 °C (A) et à 20 °C (B) de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 incubé avec la composition B5.

Figure 6 : représente un graphique de l'évolution de la concentration de sucres libres au
25 cours du temps à 30 °C de la composition B1 incubée avec *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p sur la base de la matière sèche totale).

Figure 7 : représente un graphique de l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 30 °C de la composition B1 incubée avec
30 *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

Figure 8 : représente un graphique de l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 30 °C de la composition B2 incubée avec *Kluyveromyces lactis* (CBS 2103). Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p sur la base de la matière sèche totale).

5 **Figure 9** : représente un graphique de l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 30 °C de la composition B2 incubée avec *Kluyveromyces lactis* (CBS 2103). Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

10 **Figure 10** : représente un graphique de l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 30 °C de la composition B3 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p sur la base de la matière sèche totale).

15 **Figure 11** : représente un graphique de l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 30 °C de la composition B3 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

20 **Figure 12** : représente un graphique de l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 30 °C de la composition B4 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p sur la base de la matière sèche totale).

25 **Figure 13** : représente un graphique de l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 30 °C de la composition B4 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

30 **Figure 14** : représente un graphique de l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 30 °C de la composition B5 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p sur la base de la matière sèche totale).

Figure 15 : représente un graphique de l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 30 °C de la composition B5 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par

HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

Figure 16 : représente un graphique de la croissance (mesurée par la densité optique à 660 nm) au cours du temps à 30 °C de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 incubé avec la composition C.

Figure 17 : représente un graphique de l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 30 °C de la composition C incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p).

Figure 18 : représente un graphique de l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 30 °C de la composition C incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

Figure 19 : représente un graphique de l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 20 °C de la composition D incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p).

Figure 20 : représente un graphique de l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 20 °C de la composition D incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

Figure 21 : représente un graphique de l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 20 °C de la composition E incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p).

Figure 22 : représente un graphique de l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 20 °C de la composition E incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

Figure 23 : représente un graphique de la croissance (mesurée en densité optique à 660 nm) au cours du temps à 30 °C de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 incubée avec la composition A1.

5 **Figure 24** : représente des graphiques de l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 20 °C (A) et à 30 °C (B) de la composition A1 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p).

10 **Figure 25** : représente des graphiques de l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 20 °C (A) et 30 °C (B) de la composition A1 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

15 **Figure 26** : représente un graphique de l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 4 °C de la composition A2 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p).

20 **Figure 27** : représente un graphique de l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 4 °C de la composition A2 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

25 **Figure 28** : représente un graphique de l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 25 °C avec aération de la composition A3 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p).

30 **Figure 29** : représente un graphique de l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 25 °C avec aération de la composition A3 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

Figure 30 : représente un graphique de l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 30 °C de la composition B6 incubée avec *Rhodotulula dairenensis* (CBS 7294). Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p).

Figure 31 : représente un graphique de l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 30 °C de la composition B6 incubée avec *Rhodotolula dairenensis* (CBS 7294). Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

Figure 32 : représente un graphique de l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 30 °C de la composition B7 incubée avec *Aureobasidium Pullulans* (CBS621.80). Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p).

Figure 33 : représente un graphique de l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 30 °C de la composition B7 incubée avec *Aureobasidium Pullulans* (CBS 621.80). Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

Figure 34 : représente un graphique de l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 30 °C de la composition F incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p).

Figure 35 : représente un graphique de l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 30 °C de la composition F incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

DESCRIPTION DÉTAILLÉE DE L'INVENTION

Avant de décrire les présents procédés de l'invention, il doit être entendu que cette invention n'est pas limitée à des procédés, composants, produits ou combinaisons particuliers décrits, étant donné que de tels procédés, composants, produits et combinaisons peuvent évidemment varier. Il doit également être entendu que la terminologie présentement utilisée n'est pas destinée à être limitative, étant donné que la portée de la présente invention est limitée uniquement par les revendications annexées.

Dans le présent contexte, les formes au singulier « un », « une » et « le/la » comprennent à la fois les formes au singulier et au pluriel sauf indication contraire dans le contexte.

Les termes « comprenant », « comprend » et « constitué de », dans le présent contexte, sont synonymes avec « comprenant », « comprend » ou « contenant », « contient », et sont inclusifs ou ouverts et n'excluent pas des membres, éléments ou étapes de procédé additionnels non mentionnés. Il apparaîtra que les termes « comprenant », « comprend » et « constitué de », dans le présent contexte, comprennent les termes « constitué de », « consiste en » et « est constitué de », ainsi que les termes « essentiellement constitué de », « consiste essentiellement » et « est essentiellement constitué de ».

La mention de plages numériques par des bornes comprend tous les nombres et fractions inclus dans les plages respectives, ainsi que les bornes mentionnées.

- 10 Le terme « environ » ou « approximativement », dans le présent contexte, en référence à une valeur mesurable telle qu'un paramètre, une quantité, une durée temporelle, et similaire, est destiné à comprendre des variations de +/-20 % ou moins, de préférence +/-10 % ou moins, plus préférablement +/-5 % ou moins, et encore plus préférablement +/-1 % ou moins de et par rapport à la valeur spécifiée, dans la mesure où de telles variations sont appropriées pour fonctionner dans l'invention décrite. Il doit être entendu que la valeur à laquelle le modificateur « environ » ou « approximativement » est elle-même également spécifiquement, et de préférence, décrite.

- 20 Alors que les termes « un ou plusieurs » ou « au moins un », tels qu'un ou plusieurs ou au moins un membre(s) d'un groupe de membres, sont clairs en tant que tels, à titre d'exemplification supplémentaire, le terme comprend entre autres une référence à l'un quelconque desdits membres, ou à deux quelconques ou plus desdits membres, tels que, par exemple, l'un quelconque de ≥ 3 , ≥ 4 , ≥ 5 , ≥ 6 ou ≥ 7 etc., desdits membres, et jusqu'à l'ensemble desdits membres.

- 25 Toutes les références citées dans la présente spécification sont présentement incorporées en référence dans leur intégralité. En particulier, les enseignements de l'ensemble des références présentement référencées spécifiquement sont incorporées en référence.

- 30 Sauf définition contraire, tous les termes utilisés dans la description de l'invention, y compris les termes techniques et scientifiques, ont la définition telle que couramment entendue par l'homme du métier auquel cette invention appartient. À titre d'autre recommandation, les définitions des termes sont incluses pour mieux apprécier l'enseignement de la présente invention.

Dans les passages suivants, différents aspects de l'invention sont définis de manière plus détaillée. Chaque aspect défini ainsi peut être combiné avec un autre aspect ou d'autres

aspects quelconques sauf indication contraire claire dans le contexte. En particulier, une caractéristique indiquée comme étant préférée ou avantageuse peut être combinée avec une autre caractéristique ou d'autres caractéristiques indiquées comme étant préférées ou avantageuses.

- 5 Toute référence dans cette spécification à « un mode de réalisation » signifie qu'un élément, une structure ou une caractéristique particulier/particulière décrit en référence au mode de réalisation est inclus dans au moins un mode de réalisation de la présente invention. Par conséquent, des aspects de l'expression « dans un mode de réalisation » à différents emplacements dans cette spécification ne font pas nécessairement référence
- 10 au même mode de réalisation, bien que cela soit possible. De plus, les éléments, structures ou caractéristiques particuliers peuvent être combinés d'une manière adaptée quelconque, comme il apparaîtra à l'homme du métier de cette description, dans un ou plusieurs modes de réalisation. De plus, bien que certains modes de réalisation présentement décrits comprennent certains, mais pas d'autres éléments inclus dans
- 15 d'autre modes de réalisation, des combinaisons d'éléments de différents modes de réalisation sont destinées à être dans la portée de l'invention, et forment différents modes de réalisation, comme il apparaîtra à l'homme du métier. Par exemple, dans les revendications annexées, l'un quelconque des modes de réalisation revendiqués peut être utilisé dans une combinaison quelconque.
- 20 Dans la description détaillée suivante de l'invention, il est fait référence aux dessins annexés qui font partie de celle-ci, et dans lesquels sont décrits à titre d'illustration uniquement des modes de réalisation spécifiques dans lesquels l'invention peut être mise en pratique. Il doit être entendu que d'autres modes de réalisation peuvent être utilisés et des changements structuraux ou logiques peuvent être effectués sans s'écarter de la
- 25 portée de la présente invention. La description détaillée faite ci-après ne doit donc pas être considérée dans un sens limitatif, et la portée de la présente invention est définie par les revendications annexées.

Des aspects (caractéristiques) préférés et des modes de réalisation de cette invention sont présentement définis ci-dessous. Chaque aspect et mode de réalisation de

30 l'invention présentement défini peut être combiné avec un autre aspect et/ou d'autres modes de réalisation quelconques sauf indication contraire claire dans le contexte. En particulier, une caractéristique quelconque indiquée comme étant préférée ou avantageuses peut être combinée avec une autre caractéristique ou d'autres caractéristiques ou aspects indiqués comme étant préférés ou avantageux. Ci-après, la

35 présente invention est présentée en particulier par l'un quelconque ou une combinaison

quelconque d'un ou plusieurs des aspects et modes de réalisation numérotés ci-dessous de 1 à 66, avec un autre aspect et/ou d'autres modes de réalisation.

1. Procédé pour traiter une composition comprenant du fructose et du saccharose, comprenant les étapes de (a) fourniture d'une composition comprenant du fructose et du saccharose, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprend au moins 30 % en poids (% p/p) de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition ; et (b) incubation de ladite composition comprenant du fructose et du saccharose avec au moins une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* ; jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 10 % du poids initial de saccharose dans ladite composition soit obtenue.
5
2. Procédé selon l'aspect 1, dans lequel ladite au moins une levure est choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces bayanus*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Saccharomyces boulardii*, de préférence choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces bayanus*, et *Kluyveromyces lactis*.
10
3. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 ou 2, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose, au début de l'incubation, comprend en outre un ou plusieurs sucres libres (autres que le saccharose), de préférence dans lequel lesdits sucres libres sont choisis dans le groupe comprenant le glucose et le fructose.
15
4. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 3, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose, au début de l'incubation, comprend en outre un ou plusieurs sucres libres choisis dans le groupe comprenant, constitué ou essentiellement constitué du glucose et du fructose.
20
5. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 4, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose, au début de l'incubation, comprend au moins 1 % en poids de sucres libres sur la base du poids total de matière sèche de la composition.
25
6. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 5, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose, au début de l'incubation, comprend au plus 70 % en poids de sucres libres sur la base du poids total de matière sèche de la composition.
30
7. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 6, dans lequel ledit fructose a un degré de polymérisation (DP) moyen en nombre d'au moins 3, par exemple au

moins 5, par exemple au moins 7, par exemple au moins 10, par exemple au moins 15, par exemple au moins 20, par exemple au moins 25, par exemple au moins 70.

8. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 7, dans lequel ledit fructane a un DP moyen en nombre dans la plage de 3 à 30.
9. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 8, dans lequel ledit fructane est d'origine végétale, de préférence provenant de chicorée.
10. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 9, dans lequel ledit fructane est un fructane de chicorée.
11. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 10, dans lequel ledit fructane est l'inuline, de préférence l'inuline de chicorée.
12. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 11, dans lequel ledit fructane est une inuline ayant un DP dans la plage de 2 à environ 100.
13. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 12, dans lequel ledit fructane est une inuline ayant une formule GF_n et/ou F_m , dans laquelle G représente un motif de glucose, F représente un motif de fructose, n est un entier représentant le nombre de motifs de fructose liés au motif de glucose terminal, et m est un entier représentant le nombre de motifs de fructose mutuellement liés dans la chaîne glucidique, dans laquelle n est au moins 2, et m est au moins 2.
14. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 13, dans lequel ledit fructane est partiellement hydrolysé.
15. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 14, dans lequel ledit fructane comprend ou est constitué ou essentiellement constitué de fructo-oligosaccharides.
16. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 15, dans lequel ledit fructane comprend ou est constitué ou essentiellement constitué de fructo-oligosaccharides, et lesdits fructo-oligosaccharides ont un DP moyen en nombre d'au moins 3 et au plus 7.
17. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 16, dans lequel ladite composition comprenant du fructane et du saccharose comprend au moins 40 % en poids de fructane sur la base du poids total de matière sèche de la composition, de préférence au moins 50 % en poids, encore plus préférablement au moins 60 % en poids.

18. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 17, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprend au plus 99 % en poids de fructose sur la base du poids total de matière sèche de la composition.
- 5 19. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 18, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprend au moins 30 % en poids et au plus 99 % en poids de fructose sur la base du poids total de matière sèche de la composition, de préférence au moins 40 % en poids, de préférence au moins 50 % en poids, encore plus préférentiellement au moins 60 % en poids.
- 10 20. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 19, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est une composition liquide, de préférence une composition aqueuse.
- 15 21. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 20, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprend au moins 5 % en poids de matière sèche sur la base du poids total de la composition, de préférence au moins 8 % en poids, de préférence au moins 10 % en poids.
- 20 22. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 21, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprend au moins 5 % en poids et au plus 80 % en poids de matière sèche sur la base du poids total de la composition, par exemple au moins 8 % en poids, de préférence au moins 10 % en poids, de préférence au plus 70 % en poids, de préférence au plus 60 % en poids, de préférence au plus 55 % en poids, de préférence au plus 50 % en poids.
- 25 23. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 22, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprend au plus 80 % en poids de matière sèche sur la base du poids total de la composition, de préférence au plus 70 % en poids, de préférence au plus 60 % en poids, de préférence au plus 55 % en poids, de préférence au plus 50 % en poids.
- 30 24. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 23, comprenant en outre l'étape d'ajout d'une source d'azote à ladite composition comprenant du fructose et du saccharose, avant et/ou pendant l'étape (b), de préférence l'ajout d'extrait de levure.
25. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 24, comprenant en outre l'une ou les deux étapes d'aération et d'agitation de la composition comprenant du fructose et du saccharose pendant l'incubation avec ladite levure.

26. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 25, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est incubée avec ladite levure à une température d'au moins le point de congélation de la composition, de préférence au-dessus du point de congélation de ladite composition.
- 5 27. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 26, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est incubée avec ladite levure à une température d'au moins -5 °C, de préférence au moins 0 °C, par exemple au moins 5 °C, par exemple au moins 10 °C, par exemple au moins 15 °C, par exemple au moins 20 °C.
- 10 28. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 27, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est incubée avec ladite levure à une température d'au plus 40 °C, par exemple au plus 35 °C, par exemple au plus 30 °C.
- 15 29. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 28, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est incubée avec ladite levure à une température d'au moins le point de congélation de ladite composition et au plus 40 °C, par exemple d'au moins -5 °C et au plus 40 °C, par exemple au moins 0 °C et au plus 35 °C, par exemple au moins 5 °C et au plus 33 °C, par exemple au moins 10 °C et au plus 30 °C, par exemple au moins 15 °C et au plus 30 °C, par exemple au moins 20 °C et au plus 30 °C.
- 20 30. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 29, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est incubée avec ladite levure jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 20 % du poids initial de sucres libres dans ladite composition soit obtenue, de préférence une réduction d'au moins 30 %, par exemple au moins 40 %, par exemple au moins 50 % ; de préférence au moins 60 %, par exemple au moins 70 %, par exemple au moins 80 %, de préférence au moins 90 %, de préférence au moins 95 %, par exemple au moins 98 %, par exemple une réduction d'au moins 99 %.
- 25 31. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 30, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est incubée avec ladite levure pendant au moins 5 heures, de préférence pendant au moins 10 heures.
- 30 32. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 31, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est incubée avec ladite levure pendant au plus 12 mois.

33. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 32, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est incubée avec ladite levure à un pH d'au moins 2,5, de préférence un pH d'au moins 3,0, de préférence un pH d'au moins 3,5.
- 5 34. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 33, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est incubée avec ladite levure à un pH d'au plus 8,5, par exemple à un pH d'au plus 8,0, par exemple à un pH d'au plus 7,5, par exemple à un pH d'au plus 7,0.
- 10 35. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 34, comprenant l'incubation au début de ladite incubation d'au moins 10^3 unités formant des colonies (UFC) par ml, par exemple au moins 10^4 UFC de ladite levure par ml de ladite composition comprenant du fructose et du saccharose.
- 15 36. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 35, comprenant l'incubation au début de ladite incubation d'au plus 10^{10} UFC/ml, par exemple au plus 10^9 UFC/ml, par exemple au plus 10^8 UFC de ladite levure par ml de ladite composition comprenant du fructose et du saccharose.
- 20 37. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 36, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose, au début de l'incubation, comprend au moins 1 % en poids et au plus 70 % en poids de sucres libres comprenant ledit saccharose sur la base du poids total de matière sèche de la composition.
38. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 37, dans lequel la composition de l'étape (a) est obtenue par extraction avec de l'eau chaude d'un matériau contenant des fructanes.
- 25 39. Procédé selon l'aspect 38, dans lequel ledit matériau contenant des fructanes est d'origine végétale.
40. Procédé selon l'aspect 38 ou 39, dans lequel ledit matériau contenant des fructanes est de la chicorée.
- 30 41. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 40, dans lequel la composition de l'étape (a) est obtenue au moyen d'un procédé comprenant les étapes de (i) extraction avec de l'eau chaude d'un matériau contenant des fructanes, et (ii) filtration de l'extrait d'eau chaude de manière à récupérer une composition comprenant du fructose et du saccharose de l'étape (a).

42. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 41, dans lequel la composition de l'étape (a) est obtenue au moyen d'un procédé comprenant les étapes de (i) extraction avec de l'eau chaude d'un matériau contenant des fructanes, (ii) filtration de l'extrait d'eau chaude ; et (iii) déminéralisation du filtrat de l'étape (ii) de manière à récupérer une composition comprenant du fructose et du saccharose de l'étape (a).
43. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 42, dans lequel la composition de l'étape (a) est obtenue au moyen d'un procédé comprenant les étapes de (i) extraction avec de l'eau chaude d'un matériau contenant des fructanes, (ii) filtration de l'extrait d'eau chaude ; (iii) déminéralisation du filtrat de l'étape (ii) ; et (iv) filtration sur charbon actif du filtrat de l'étape (iii) de manière à récupérer une composition comprenant du fructose et du saccharose de l'étape (a).
44. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 43, comprenant en outre l'étape de retrait de ladite levure après incubation avec ladite composition comprenant du fructose et du saccharose.
45. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 44, dans lequel ladite levure est un lysat de ladite levure ou un extrait de ladite levure.
46. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 45, dans lequel le rapport en poids des sucres libres comprenant du saccharose au fructose dans ladite composition comprenant du fructose et du saccharose au début de l'incubation est d'au moins 1:100.
47. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 46, dans lequel le rapport en poids des sucres libres comprenant du saccharose au fructose dans ladite composition comprenant du fructose et du saccharose au début de l'incubation est d'au plus 2,3:1.
48. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 47, dans lequel le rapport en poids des sucres libres comprenant du saccharose au fructose dans ladite composition comprenant du fructose et du saccharose au début de l'incubation est d'au moins 1:100 et d'au plus 2,3:1.
49. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 48, dans lequel *Saccharomyces* est *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* déposé dans les Collections coordonnées belges de micro-organismes (BCCM) avec le numéro d'ordre MUCL 55125.

50. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 49, dans lequel à la fin de ladite étape d'incubation, le poids de fructose de ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est inférieur d'au plus 20 % au poids initial de fructose au début de ladite incubation, de préférence au plus 10 %, de manière préférée entre toutes au plus 5 %.
51. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 50, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est incubée avec ladite levure jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 20 % du poids initial de sucres libres (comprenant du saccharose) dans ladite composition soit obtenue, de préférence une réduction d'au moins 30 %, par exemple au moins 40 %, par exemple au moins 50 %, par exemple au moins 60 % ; de préférence au moins 70 %, par exemple au moins 80 %, par exemple au moins 90 %, de préférence au moins 95 %, par exemple au moins 98 %, par exemple au moins 99 %, et le poids de fructose de ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est inférieure d'au plus 20 % au poids initial de fructose poids au début de ladite incubation, de préférence au plus 10 %, de manière préférée entre toutes au plus 5 %.
52. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 51, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est incubée avec ladite levure jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 50 % du poids initial de sucres libres (comprenant du saccharose) dans ladite composition est obtenu de préférence une réduction d'au moins 60 %, par exemple au moins 70 %, par exemple au moins 80 %, de préférence au moins 90 %, de préférence au moins 95 %, par exemple au moins 98 %, par exemple au moins 99 %, et the fructose poids de ladite composition comprenant du fructose est au plus 5 % plus faible que le poids initial de fructose au début de ladite incubation.
53. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 52, dans lequel ladite au moins une levure est choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* ; de préférence ladite au moins une levure est choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis*, et *Saccharomyces boulardii* ; encore plus préférablement ladite au moins une levure est choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, et *Kluyveromyces lactis* var. *drosophylarum*, encore plus préférablement ladite au moins une levure est choisie dans le groupe comprenant ou constitué de

- Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (déposé au BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve) ; *Saccharomyces bayanus* MUCL 31491 (obtenu auprès du BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* MUCL 31495 (obtenu auprès du BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* BC S103 (obtenu auprès de Fermentis, groupe Lesaffre), *Saccharomyces bayanus* VR 44 (obtenu auprès de Fermentis, groupe Lesaffre), *Kluyveromyces lactis* var. *drosophylarum* CBS 2103 (obtenu auprès du centre de biodiversité fongique CBS-KNAW, Utrecht, Pays-Bas), *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70 (obtenu auprès de Fermentis, groupe Lesaffre), et *Saccharomyces boulardii* (obtenu auprès d'Enterol® ; biocodex gamma).
54. Procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 53, dans lequel ladite au moins une levure est choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces* ; de préférence ladite au moins une levure est choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Saccharomyces boulardii* ; encore plus préférablement, ladite au moins une levure est choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii* et encore plus préférablement ladite au moins une levure est choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (déposé au BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve) ; *Saccharomyces bayanus* MUCL 31491 (obtenu auprès du BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* MUCL 31495 (obtenu auprès du BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* BC S103 (obtenu auprès de Fermentis, groupe Lesaffre), *Saccharomyces bayanus* VR 44 (obtenu auprès de Fermentis, groupe Lesaffre), *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70 (obtenu auprès de Fermentis, groupe Lesaffre), et *Saccharomyces boulardii* (obtenu auprès d'Enterol® ; biocodex gamma), et encore plus préférablement *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (déposé au BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve) .
55. Composition comprenant du fructose, du saccharose et au moins une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, et *Kluyveromyces lactis*.
56. Composition comprenant du fructose, du saccharose et au moins une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, et *Kluyveromyces lactis*, ladite composition comprenant du saccharose

et au moins 30 % en poids de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition.

57. Levure déposée dans les Collections coordonnées belges de micro-organismes (BCCM) avec le numéro d'ordre MUCL 55125.
- 5 58. Utilisation d'une levure selon l'aspect 57 pour réduire la quantité de sucres libres comprenant du saccharose dans une composition comprenant du fructose et du saccharose, plus préférentiellement pour réduire la quantité de saccharose dans une composition comprenant du saccharose et au moins 30 % en poids de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition.
- 10 59. Utilisation d'une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* pour réduire la quantité de sucres libres comprenant du saccharose dans une composition comprenant du fructose et du saccharose, plus préférentiellement pour réduire la quantité de saccharose dans une composition comprenant du saccharose et au moins 30 % en poids de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition.
- 15 60. Procédé pour réduire la quantité de sucres libres comprenant du saccharose dans une composition comprenant du fructose et du saccharose comprenant l'étape d'utilisation du procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 54.
- 20 61. Procédé pour purifier une composition comprenant du fructose et du saccharose comprenant l'étape d'utilisation du procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 54.
62. Procédé pour stocker une composition comprenant du fructose et du saccharose comprenant l'étape d'utilisation du procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 54.
- 25 63. Procédé pour traiter une composition comprenant du fructose et du saccharose comprenant l'étape d'utilisation du procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 54.
64. Procédé pour enlever les sucres libres, à partir d'une composition comprenant du fructose et du saccharose comprenant l'étape d'utilisation du procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 54.
- 30 65. Procédé pour réduire la quantité de sucres libres, à partir d'une composition comprenant du fructose et du saccharose comprenant l'étape d'utilisation du procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 54.

66. Procédé pour éliminer des sucres libres, à partir d'une composition comprenant du fructose et du saccharose comprenant l'étape d'utilisation du procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 54.

5 67. Procédé pour fermenter des sucres libres, à partir d'une composition comprenant du fructose et du saccharose comprenant l'étape d'utilisation du procédé selon l'un quelconque des aspects 1 à 54.

10 68. Utilisation d'une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces*, et *Kluyveromyces* pour réduire la quantité de sucres libres comprenant du saccharose dans une composition comprenant du fructose et du saccharose, plus préférentiellement pour réduire la quantité de saccharose dans une composition comprenant du saccharose et au moins 30 % en poids de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition ou l'un quelconque ou plusieurs des aspects 1 à 54.

15 Dans un premier aspect, la présente invention concerne un procédé pour traiter une composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, comprenant l'étape d'incubation d'une composition comprenant du fructose et du saccharose, ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprenant au moins 30 % en poids de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition, avec au moins une levure choisie dans le groupe
20 comprenant ou constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces*, jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 10 % du poids initial de saccharose dans ladite composition soit obtenue ; ainsi que l'utilisation combinée ou séparée de ces une ou plusieurs levures pour l'application mentionnée ci-dessus. Ladite réduction d'au moins 10 % du poids initial de saccharose dans ladite composition peut être mesurée par chromatographie liquide telle
25 que, par exemple, par chromatographie d'échange d'anions haute performance couplée avec détection ampérométrique puisée (HPAEC-PAD).

Dans un autre aspect, la présente invention concerne un procédé pour purifier une composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, comprenant l'étape d'incubation d'une composition comprenant du fructose
30 et du saccharose, ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprenant au moins 30 % en poids de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition, avec au moins une levure choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 10 % du poids initial de saccharose dans ladite composition soit

obtenue ; ainsi que l'utilisation combinée ou séparée de ces une ou plusieurs levures pour l'application mentionnée ci-dessus.

Dans un autre aspect, la présente invention concerne un procédé pour traiter une composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, comprenant l'étape d'incubation d'une composition comprenant du fructose et du saccharose, ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprenant au moins 30 % en poids de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition, avec au moins une levure choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 10 % du poids initial de saccharose dans ladite composition soit obtenue ; ainsi que l'utilisation combinée ou séparée de ces une ou plusieurs levures pour l'application mentionnée ci-dessus.

Dans un autre aspect, la présente invention concerne un procédé pour stocker une composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, comprenant l'étape d'incubation d'une composition comprenant du fructose et du saccharose, ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprenant au moins 30 % en poids de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition, avec au moins une levure choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 10 % du poids initial de saccharose dans ladite composition soit obtenue ; ainsi que l'utilisation combinée ou séparée de ces une ou plusieurs levures pour l'application mentionnée ci-dessus, et le stockage de ladite composition.

Dans un autre aspect, la présente invention concerne un procédé pour éliminer des glucides, de préférence des sucres libres comprenant le saccharose, plus préférablement des monomères de glucide et/ou des dimères de glucide, de manière préférée entre toutes des monomères ou dimères d'hexose et/ou pentose, de manière préférée entre toutes le saccharose, le glucose et/ou le fructose, d'une composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, comprenant l'étape d'incubation d'une composition comprenant du fructose et du saccharose, ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprenant au moins 30 % en poids de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition, avec au moins une levure choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 10 % du poids initial de saccharose dans ladite composition soit obtenue ; ainsi que l'utilisation combinée ou séparée de ces une ou plusieurs levures pour l'application mentionnée ci-dessus.

Dans un autre aspect, la présente invention concerne un procédé pour réduire la quantité de sucres, de préférence de sucres libres, plus préférablement des monomères de glucide et/ou des dimères de glucide, de manière préférée entre toutes des monomères ou dimères d'hexose et/ou pentose, de manière préférée entre toutes le saccharose, le glucose et/ou le fructose, dans une composition comprenant du fructane et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, comprenant l'étape d'incubation d'une composition comprenant du fructane et du saccharose, ladite composition comprenant du fructane et du saccharose comprenant au moins 30 % en poids de fructane sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition, avec au moins une levure choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 10 % du poids initial de saccharose dans ladite composition soit obtenue ; ainsi que l'utilisation combinée ou séparée de ces une ou plusieurs levures pour l'application mentionnée ci-dessus.

Dans un autre aspect, la présente invention concerne un procédé pour éliminer des sucres, de préférence des sucres libres, plus préférablement des monomères de glucide et/ou dimères de glucide, de manière préférée entre toutes des monomères ou dimères d'hexose et/ou pentose, de manière préférée entre toutes le saccharose, le glucose et/ou le fructose, d'une composition comprenant du fructane et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, comprenant l'étape d'incubation d'une composition comprenant du fructane et du saccharose, ladite composition comprenant du fructane et du saccharose comprenant au moins 30 % en poids de fructane sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition, avec au moins une levure choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 10 % du poids initial de saccharose dans ladite composition soit obtenue ; ainsi que l'utilisation combinée ou séparée de ces une ou plusieurs levures pour l'application mentionnée ci-dessus.

Dans un autre aspect, la présente invention concerne un procédé pour fermenter des sucres, de préférence des sucres libres, plus préférablement monomères de glucide et/ou dimères de glucide, de manière préférée entre toutes des monomères ou dimères d'hexose et/ou pentose, de manière préférée entre toutes le saccharose, le glucose et/ou le fructose, dans une composition comprenant du fructane et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, comprenant l'étape d'incubation d'une composition comprenant du fructane et du saccharose, ladite composition comprenant du fructane et du saccharose comprenant au moins 30 % en poids de fructane sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition, avec au moins une levure choisie

dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 10 % du poids initial de saccharose dans ladite composition soit obtenue ; ainsi que l'utilisation combinée ou séparée de ces une ou plusieurs levures pour l'application mentionnée ci-dessus.

- 5 Dans le présent contexte, le terme « incubation » ou « incubé » désigne la mise en contact de la levure telle que présentement décrite avec la composition comprenant du fructane et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, telle que présentement décrite et de préférence le maintien d'un tel mélange dans des conditions spécifiques afin de favoriser une réaction particulière, en particulier la fermentation. Il doit
10 être entendu que si des levures vivantes sont utilisées, les paramètres d'incubation sont définis de sorte que la viabilité de la levure, au moins pendant un temps spécifié, soit assurée.

Dans le présent contexte, le terme « fructane » concerne des polymères de molécules de fructose. Un motif de glucose à ce qui serait sinon l'extrémité réductrice peut être présent
15 dans les fructanes. La position du lieu des résidus de fructose peut déterminer le type du fructane. La liaison peut être présente à un des deux hydroxyles primaires (OH-1 ou OH-6). Le fructane pour utilisation pour utilisation dans la présente invention comprend les deux types de base de fructane simple : les inulines (dans lesquelles les résidus fructosyle sont généralement liés par des liaisons β -2,1) et des lévanes (dans lesquels les
20 résidus fructosyle sont généralement liés par des liaisons β -2,6). Il est présentement inclus le graminiane ou des fructanes mixtes qui ont à la fois des liaisons β -2,1 et β -2,6 entre les motifs de fructose, et contiennent donc des branchements. Dans les plantes, jusqu'à 1000 motifs de fructose peuvent être liés dans une molécule de fructane unique. Le fructane pour utilisation dans la présente invention peut également comprendre des
25 fructanes microbiens qui peuvent comprendre jusqu'à 100 000 motifs de fructose. Le fructane pour utilisation dans la présente invention peut être trouvé dans des plantes, des algues et des bactéries. Les fructanes sont un type de fibre alimentaire. Les fructanes pour utilisation dans la présente invention peuvent être principalement obtenus industriellement à partir de racines de chicorée (*Cichorium intybus*) ou à partir du
30 topinambour (*Helianthus tuberosus*). Les produits de dégradation d'inuline sont des fructo-oligosaccharides (FOS), c'est-à-dire que l'hydrolyse d'inulines peut produire des fructo-oligosaccharides, qui sont des oligomères ayant un DP généralement au-dessous de 20, qui sont également compris présentement. Les fructo-oligosaccharides peuvent également être synthétisés de façon enzymatique à partir de saccharose.

Dans le présent contexte, le terme « inuline » désigne un mélange d'oligo- et/ou polysaccharides de fructose qui peut avoir un glucose terminal. Les inulines appartiennent à une classe de fibres appelée fructanes. Dans un mode de réalisation, l'inuline peut être représentée, suivant le motif glucidique terminal, par les formules générales GF_n et/ou F_m , où G représente un motif de glucose, F représente un motif de fructose, n est un entier représentant le nombre de motifs de fructose liés au motif de glucose terminal, et m est un entier représentant le nombre de motifs de fructose mutuellement liés dans la chaîne glucidique, de préférence où n est au moins 2, et m est au moins 2. Les inulines pour utilisation dans la présente invention comprennent des inulines avec un glucose terminal qui sont également appelés alpha-D-glucopyranosyl-[bêta-D-fructofuranosyl](n-1)-D-fructofuranosides, ainsi que des inulines sans glucose qui sont également appelés bêta-D-fructopyranosyl-[D-fructofuranosyl](n-1)-D-fructofuranosides. Les inulines pour utilisation dans la présente invention peuvent également comprendre une inuline ramifiée. Les inulines pour utilisation dans la présente invention peuvent également comprendre des produits d'hydrolyse d'inulines tels que des fructo-oligosaccharides (FOS), également appelés oligofructoses, qui sont des oligomères de fructose avec un DP de ≤ 20 , et elles peuvent également comprendre des fructo-oligosaccharides terminant par un glucose terminal avec un DP de 3 à 5 synthétisés à partir de saccharose. De préférence, lesdits fructo-oligosaccharides ont un DP moyen en nombre d'au moins 3 et au plus 7. Des chaînes de saccharide adaptées d'inuline d'origine végétale pour utilisation dans l'invention peuvent avoir un DP dans la plage de 2 à environ 100. L'inuline peut être un produit liquide ou en poudre.

Dans le présent contexte, les termes « degré de polymérisation » ou « (DP) » désignent le nombre de résidus de monosaccharide présents dans un oligo- ou polysaccharide. De plus, le paramètre de degré de polymérisation moyen est souvent utilisé. Le degré de polymérisation est une mesure de poids moléculaire (MW). Le DP peut être calculé comme étant le rapport du MW total du polymère ou oligomère et le MW des motifs de répétition.

Le degré de polymérisation moyen (av DP) d'un mélange d'oligo- ou polysaccharides (polydispersés) est la moyenne du degré de polymérisation (DP) de toutes les molécules présentes dans ce mélange de saccharides. Dans le présent contexte, le degré de polymérisation moyen, sauf indication contraire, est calculé sur la base du nombre de molécules pour chaque DP : av DPn ou degré de polymérisation moyen en nombre comme présentement décrit ci-dessous.

La détermination de la distribution de masse moléculaire de l'échantillon de fructose est effectuée par chromatographie d'échange d'anions haute performance couplée à la détection ampérométrique pulsée (HPAEC-PAD) sur un système de chromatographie Thermo Scientific - Dionex ICS 5000. La séparation des différentes longueurs de chaîne est effectuée avec une colonne Carbowax PA100 4 mm x 250 mm (+ précolonne) à 40 °C avec un débit de 1 ml/min. De l'hydroxyde de sodium 160 mM est utilisé en tant qu'éluant. Un gradient d'acétate de sodium pendant l'essai permet de séparer les différentes longueurs de chaîne.

Des standards de mélanges de fructanes à différentes concentrations sont injectés afin de tracer les courbes d'étalonnage et assigner les pics dans le chromatogramme sur la base du temps de rétention du standard. Les courbes d'étalonnage permettent de déterminer la concentration de chaque espèce moléculaire dans l'échantillon.

À partir de la distribution de concentration obtenue, le degré de polymérisation moyen en nombre $\overline{DP_n}$ est calculé par

$$\overline{DP_n} = \frac{\sum_i N_i DP_i}{\sum_i N_i}$$

où N_i est le nombre de molécules ayant i résidus et DP_i le nombre de résidus.

Dans un mode de réalisation, le fructose tel que présentement décrit, de préférence l'inuline, a un DP moyen en nombre d'au moins 3. Dans un mode de réalisation, le fructose tel que présentement décrit, de préférence l'inuline, a un DP moyen en nombre d'au plus 500. Dans un mode de réalisation, ledit fructose, de préférence l'inuline, a un DP moyen en nombre d'au moins 3, par exemple au moins 5, par exemple au moins 7, par exemple au moins 10, par exemple au moins 15, par exemple au moins 20, par exemple au moins 25, par exemple au moins 70. Dans un mode de réalisation, le fructose tel que présentement décrit, de préférence l'inuline, a un DP moyen en nombre d'au moins 3 et d'au plus 500, de préférence d'au moins 3 et d'au plus 100, plus préférentiellement d'au moins 3 et d'au plus 30. Dans un autre mode de réalisation préféré, le fructose tel que présentement décrit, de préférence l'inuline, comprend ou est constitué de fructo-oligosaccharides (FOS). Dans un autre mode de réalisation préféré, le fructose tel que présentement décrit a un DP moyen en nombre d'au moins 3 et d'au plus 20, de préférence d'au moins 3 et d'au plus 15, par exemple d'au moins 3 et d'au plus 10. Dans un autre mode de réalisation préféré supplémentaire, le fructose tel que présentement décrit, de préférence l'inuline, comprend ou est constitué de fructose, de préférence

l'inuline, hydrolysé ou partiellement hydrolysé. Du fructane hydrolysé, tel que l'inuline hydrolysée, peut, par exemple, être obtenu de façon enzymatique (par exemple, par des inulinases) ou peut, en variante, être obtenu par hydrolyse acide et/ou thermique.

Dans un mode de réalisation, le fructane, de préférence l'inuline, comme présentement
5 décrit est dérivé ou isolé à partir de plantes, c'est-à-dire qu'il est d'origine végétale, de préférence de chicorée (*Cichorium intybus*), agave (*Agave spp.*), banane (*Musa spp.*), bardane (*Arctium lappa*), camassie (*Camassia spp.*), échinacée (*Echinacea spp.*), *Saussurea Costus lappa*, pissenlit (*Taraxacum ruderalia*), grande aunée (*Inula helenium*), ail (*Allium sativum*), topinambour (*Helianthus tuberosus*), jicama (*Pachyrhizus erosus*),
10 arnica (*Arnica montana*), armoise (*Artemisia vulgaris*), oignon (*Allium cepa*), igname sauvage (*Dioscorea spp.*), poire de terre (*Smallanthus sonchifolius spp.*), poireau (*Allium porum*), asperge, *Scorzonera hispanica*, salsifis (*Tragopogon porrifolius*), blé (*Triticum aestivum*), dahlia (*Dahlia spp.*), de manière préférée entre toutes de chicorée.

Dans un mode de réalisation, la composition comprenant du fructane et du saccharose
15 est obtenue par extraction avec de l'eau chaude. Dans un mode de réalisation préféré, la production industrielle de fructane, tel que l'inuline de, par exemple, racine de chicorée met en œuvre l'extraction avec de l'eau chaude. Cependant, des sucres libres (tels que le glucose, le fructose et le saccharose) sont co-extraits.

Dans le présent contexte, le terme « sucres libres » désigne des monosaccharides et/ou
20 des disaccharides. Les sucres libres peuvent, par exemple, être présents dans des plantes, un matériau végétal, ou des homogénats, extraits ou isolats de plante, ou un matériau végétal fractionné. Dans un mode de réalisation préféré, le terme « sucres libres », dans le présent contexte, désigne des mono- ou di-saccharides d'hexose ou de pentose, de préférence des mono- ou di-saccharides d'hexose. De manière préférée
25 entre toutes, le terme « sucres libres » comprend le fructose, le glucose, et le saccharose (sucrose). En conséquence, dans un mode de réalisation, les sucres libres comprennent ou sont constitués ou essentiellement constitués de fructose. Dans un autre mode de réalisation, les sucres libres comprennent ou sont constitués ou essentiellement constitués de glucose. Dans un autre mode de réalisation supplémentaire, les sucres
30 libres comprennent ou sont constitués ou essentiellement constitués de saccharose. Dans un autre mode de réalisation, les sucres libres comprennent ou sont constitués de fructose et de glucose. Dans un autre mode de réalisation supplémentaire, les sucres libres comprennent ou sont constitués ou essentiellement constitués de fructose et de saccharose. Dans un autre mode de réalisation, les sucres libres comprennent ou sont
35 constitués ou essentiellement constitués de glucose et de saccharose. Dans un autre

mode de réalisation supplémentaire, les sucres libres comprennent ou sont constitués ou essentiellement constitués de fructose, de glucose, et de saccharose.

Dans des modes de réalisation, dans les procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du
5 saccharose, comprend en outre un ou plusieurs sucres libres, définis comme décrit ci-dessus.

Dans le présent contexte, le terme « composition comprenant du fructose et du saccharose » ou « composition comprenant de l'inuline et du saccharose » désigne un type quelconque de composition qui contient du fructose ou de l'inuline respectivement et
10 du saccharose. Une telle composition peut être une composition sèche. De préférence, une telle composition est une composition liquide, de manière préférée entre toutes une composition aqueuse (c'est-à-dire, une composition comprenant de l'eau et une certaine quantité de fructose, de préférence l'inuline, dissoute et/ou dispersée dans celle-ci). Les compositions peuvent être obtenues par homogénéisation, par exemple, de matériau
15 végétal. De préférence, les compositions telles que présentement décrites désignent des extraits, qui sont enrichis en fructose, de préférence l'inuline, par rapport au matériau source à partir duquel elles sont dérivées. L'extraction d'inuline peut, par exemple, mettre en œuvre le placement de matériau végétal dans de l'eau chaude suivi par une concentration (par exemple, évaporation). Dans un mode de réalisation, les compositions
20 comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, telles que présentement décrites comprennent au moins 30 % en poids de fructose, de préférence l'inuline, sur la base du poids total de matière sèche de la composition, de préférence au moins 40 % en poids, de préférence au moins 50 % en poids, de préférence au moins 60 % en poids de fructose, par exemple au moins 30 g de fructose,
25 de préférence l'inuline, par 100 g de matière sèche. Dans un mode de réalisation, les compositions comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, telles que présentement décrites comprennent au moins 1,5 % en poids de fructose sur la base du poids total de la composition, de préférence l'inuline ; de préférence au moins 5,0 % en poids de fructose, de préférence l'inuline ; plus
30 préférablement au moins 8,0 % en poids de fructose, de préférence l'inuline. Dans un autre mode de réalisation, les compositions comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, telles que présentement décrites comprennent au plus 80 % en poids de fructose ; de préférence l'inuline, sur la base du poids total de la composition. Dans un mode de réalisation, les compositions comprenant du fructose et du
35 saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, telles que présentement décrites

comprennent au plus 70 % en poids, par exemple au plus 60 % en poids, par exemple au plus 50 % en poids de fructose, de préférence l'inuline ; par exemple au plus 45 % en poids de fructose, de préférence l'inuline sur la base du poids total de la composition. Dans un mode de réalisation préféré, les compositions comprenant du fructose et du

5 saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, telles que présentement décrites comprennent au moins 1,5 % en poids de fructose et au plus 80 % en poids de fructose, de préférence l'inuline, c'est-à-dire au moins 1,5 g et au plus 80 g de fructose, de préférence l'inuline par 100 g de composition. Dans un mode de réalisation, les compositions comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du

10 saccharose, telles que présentement décrites comprennent au moins 5 % en poids et au plus 70 % en poids de fructose sur la base du poids total de la composition ; de préférence l'inuline, de préférence au moins 8 % en poids et au plus 65 % en poids de fructose, de préférence l'inuline ; plus préférablement au moins 8 % en poids et au plus 50 % en poids de fructose, de préférence l'inuline ; encore plus préférablement au moins

15 8 % en poids et au plus 45 % en poids de fructose, de préférence l'inuline.

La composition comprenant du fructose et du saccharose, telle qu'un extrait riche en inuline, peut être obtenue par extraction avec de l'eau chaude d'un matériau végétal. Le matériau végétal, par exemple, des racines de chicorée est dans un premier temps récolté et peut ensuite être lavé et, si nécessaire, découpé en cossettes (bandes ou

20 tranches). L'extraction avec de l'eau chaude peut être effectuée par diffusion à contre-courant avec de l'eau chaude du matériau végétal, de préférence du matériau végétal tranché. Un rapport typique du matériau végétal (par exemple des cossettes) à l'eau peut être, par exemple, de 1. Une température adaptée peut être d'au moins 50 °C, par exemple au moins 60 °C, par exemple au moins 70 °C. Un temps d'extraction typique

25 peut varier de 1 à 10 heures. Le jus résultant contenant du fructose en solution peut, si nécessaire, être grossièrement filtré afin d'éliminer le matériau végétal épuisé.

De préférence, la composition de l'étape (a) est obtenue en utilisant un procédé comprenant les étapes de (i) extraction avec de l'eau chaude d'un matériau contenant des fructanes, (ii) filtration de l'extrait d'eau chaude ; et (iii) déminéralisation du filtrat de

30 l'étape (ii) de manière à récupérer une composition comprenant du fructose et du saccharose de l'étape (a). Dans un mode de réalisation, la composition de l'étape (a) est obtenue en utilisant un procédé comprenant les étapes de (i) extraction avec de l'eau chaude d'un matériau contenant des fructanes, (ii) filtration de l'extrait d'eau chaude ; (iii) déminéralisation du filtrat de l'étape (ii) ; et (iv) filtration sur charbon actif du filtrat de

l'étape (iii) de manière à récupérer une composition comprenant du fructose et du saccharose de l'étape (a).

Un exemple de composition résultante comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, peut avoir une teneur typique en matière sèche
5 de 13 % et comprendre environ 77 % en poids d'inuline sur la base de la matière sèche, et environ 9 % en poids de sucres libres (comprenant du saccharose).

Les levures qui peuvent être utilisées dans les procédés tels que présentement décrits sont choisis dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* ; de préférence, les levures sont choisies dans le groupe comprenant ou
10 constitué de *Saccharomyces bayanus* ; *Saccharomyces cerevisiae* ; *Kluyveromyces lactis*, et *Saccharomyces boulardii* ; encore plus préférentiellement les levures sont choisies dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, (par exemple *S. bayanus* MUCL 55125 (déposé à BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve) ou MUCL 31491 (obtenu auprès du BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* var.
15 *bayanus* (par exemple, *S. bayanus* MUCL 31495 (obtenu auprès du BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* BC S103 (obtenu auprès de Fermentis, groupe Lesaffre), *Saccharomyces bayanus* VR 44 (obtenu auprès de Fermentis, groupe Lesaffre), *Saccharomyces cerevisiae* (par exemple *S. cerevisiae* w-34/70 (obtenu auprès de Fermentis, groupe Lesaffre), *Saccharomyces boulardii* (obtenu auprès d'Enterol®,
20 *biocodex gamma*), et *Kluyveromyces lactis* var. *drosophylarum*, (par exemple *Kluyveromyces lactis* var. *drosophylarum* CBS 2103 (obtenu auprès du centre de biodiversité fongique CBS-KNAW, Utrecht, Pays-Bas). Dans un mode de réalisation préféré, la levure est *Saccharomyces bayanus*, de préférence *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* ou *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus*, de préférence *Saccharomyces*
25 *bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (déposé au BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve) ; *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495 (obtenu auprès du BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), ou *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491 (obtenu auprès du BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), de manière préférée entre toutes *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (déposé au BCCM/MUCL Louvain-
30 La-Neuve). En particulier, *Saccharomyces bayanus* semble être très polyvalent en ce qui concerne les conditions d'incubation, parce qu'il présente de très bonnes performances dans une large gamme de conditions.

Dans certains modes de réalisation, dans les procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence l'inuline, et le
35 saccharose, comprend en outre un ou plusieurs sucres libres additionnels (comprenant du

saccharose), définis comme décrit ci-dessus en une quantité d'au moins 1 % en poids, de préférence au moins 3 % en poids, sur la base du poids total de la matière sèche de la composition, et par exemple au plus 70 % en poids de sucres libres (comprenant le saccharose). Plus préférentiellement au moins 1 % en poids et au plus 60 % en poids de sucres libres (comprenant du saccharose), sur la base de matière sèche, plus préférentiellement au moins 3 % en poids et au plus 50 % en poids, sur la base de la matière sèche. Dans le présent contexte, le terme « sur la base de la matière sèche » désigne le % en poids d'un composant respectif sur la teneur en matière sèche de la composition (par exemple 1 % en poids sur la base de matière sèche désigne 1 g par 100 g de matière sèche).

La matière sèche totale peut être déterminée de façon gravimétrique en tant que résidu restant après séchage. Typiquement, l'humidité est évaporée à partir de l'échantillon par séchage à l'étuve. Typiquement, 5 g d'échantillon sont pesés dans une coupelle en aluminium sèche précédemment pesée (balance de précision Ohaus, capacité 410 g, sensibilité 0,001 g). L'échantillon est placé dans une étuve à 103 °C jusqu'à ce que le poids résiduel reste constant (au moins 24 h). L'échantillon est refroidi dans un dessiccateur pendant 1 h et ensuite immédiatement pesé. Les résultats sont exprimés en % (g de matière sèche par 100 g d'échantillon).

$$\text{Matière sèche (\%)} = (m_3 - m_1) / (m_2 - m_1) \times 100$$

m_1 = poids de la coupelle en aluminium sèche (en g)

m_2 = poids de la coupelle en aluminium avec l'échantillon avant séchage (en g)

m_3 = poids de la coupelle en aluminium avec l'échantillon après séchage (en g)

De préférence, les compositions comprenant du fructose et du saccharose comprennent au moins 1,5 % en poids de fructose, de préférence l'inuline, sur la base du poids total de la composition. De préférence, ces compositions comprennent au plus 80 % en poids de fructose, de préférence l'inuline, sur la base du poids total de la composition. De préférence, ces compositions comprennent au moins 1,5 % en poids et au plus 75 % en poids de fructose, de préférence l'inuline, comme indiqué ci-dessus.

D'autres modes de réalisation préférés illustrant les quantités de sucres libres sur la base du poids sec de la composition, au début de l'étape d'incubation, en particulier le fructose, le glucose et le saccharose qui peuvent être présents dans les compositions comprenant du fructose et du saccharose telles que présentement décrites sont décrits dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1

Mode de réalisation	saccharose	fructose	glucose
1.	≥ 1 % en poids		
2.	≥ 1,5 % en poids		
3.	1-10 % en poids		
4.	1,5-8 % en poids		
5.	≥ 1 % en poids	≥ 1 % en poids	
6.	≥ 1,5 % en poids	1-10 % en poids	
7.	1-10 % en poids	≥ 1 % en poids	
8.	1-10 % en poids	1-10 % en poids	
9.	1,5-8 % en poids	1-10 % en poids	
10.	≥ 1 % en poids	≥ 1 % en poids	≥ 0,5 % en poids
11.	≥ 1,5 % en poids	≥ 1 % en poids	≥ 0,5 % en poids
12.	1-10 % en poids	1-10 % en poids	0,5-3 % en poids
13.	1,5-8 % en poids	1-10 % en poids	0,5-3 % en poids
14.	≥ 1 % en poids	≥ 1 % en poids	0,5-3 % en poids
15.	1-10 % en poids	1-10 % en poids	≥ 0,5 % en poids
16.	≥ 1 % en poids	≥ 1 % en poids	
17.	1-10 % en poids	1-10 % en poids	
18.	≥ 1 % en poids	≥ 1 % en poids	
19.	1-10 % en poids	1-10 % en poids	
20.	≥ 1,5 % en poids		≥ 0,5 % en poids
21.	1,5-8 % en poids		0,5-3 % en poids
22.	1,5-8 % en poids		≥ 0,5 % en poids
23.	≥ 1,5 % en poids		0,5-3 % en poids
24.	≥ 1,5 % en poids	≥ 1 % en poids	≥ 0,5 % en poids
25.	1,5-8 % en poids	1-10 % en poids	0,5-3 % en poids
26.	≥ 1,5 % en poids	≥ 1 % en poids	0,5-3 % en poids
27.	1,5-8 % en poids	1-10 % en poids	≥ 0,5 % en poids
28.	1,5-8 % en poids	≥ 1 % en poids	0,5-3 % en poids

Mode de réalisation	saccharose	fructose	glucose
29.	≥ 1,5 % en poids	1-10 % en poids	≥ 0,5 % en poids
30.	1,5-8 % en poids	≥ 1 % en poids	≥ 0,5 % en poids
31.	≥ 1,5 % en poids	1-10 % en poids	0,5-3 % en poids

Dans un mode de réalisation, dans les compositions comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, telles que présentement décrites, le rapport en poids sur la base du poids sec de saccharose et d'autres sucres libres, au début de l'incubation, de préférence le rapport en poids sur la base du poids sec de saccharose et l'un ou plusieurs du fructose, et du glucose, de préférence tous, au fructose, de préférence l'inuline, est d'au moins 1:100 et d'au plus 2,3:1, plus préférentiellement d'au moins 1:50 et d'au plus 2:1. Dans d'autres modes de réalisation, dans les compositions comprenant du fructose et du saccharose, de préférence l'inuline, et du saccharose telles que présentement décrites, le rapport en poids de sucres libres, de préférence les modes de réalisation tels que décrits dans le tableau 1, au fructose, de préférence l'inuline, est d'au moins 1:10 et d'au plus 1,5:1, plus préférentiellement d'au moins 1:5 et d'au plus 1:1.

Dans certains modes de réalisation facultatifs, avant et/ou pendant l'étape (b), une source d'azote peut être ajoutée à ladite composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose. La source d'azote peut être une source d'azote organique (par exemple, une peptone) et/ou inorganique (par exemple, un nitrate). Dans un mode de réalisation, la source d'azote peut être fournie sous la forme d'une composition comprenant d'autres additifs, tels que des nutriments additionnels, des minéraux, etc. Dans un mode de réalisation préféré, la source d'azote est extraite de levure. Dans un mode de réalisation, la quantité de source d'azote est d'au moins 0,01 % en poids, exprimée en équivalent d'ammonium, et par exemple au plus 1 % en poids (sur la base du poids total de la composition), de préférence au moins 0,03 % en poids et au plus 1,0 % en poids, plus préférentiellement au moins 0,05 % en poids et au plus 1,0 % en poids.

Dans certains modes de réalisation facultatifs, chacun des procédés tels que présentement décrits peut comprendre en outre l'étape d'aération de la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, de préférence après ajout de la levure telle que présentement définie, au début de l'incubation, et/ou pendant l'incubation avec la levure telle que présentement définie. Il

- doit être entendu que le terme « aération » dans le présent contexte concerne un procédé par lequel un gaz contenant de l'oxygène, de préférence l'air, est mis en circulation dans, mélangé avec ou dissous dans la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, défini tel que défini présentement. À titre de
- 5 recommandation supplémentaire, et sans limitation, l'aération peut être effectuée en faisant passer de l'air à travers le liquide au moyen d'un tube Venturi, de turbines d'aération ou d'air comprimé qui peut être combiné avec un/des bloc(s) diffuseur(s) d'air, ainsi que des diffuseurs de bulles fines, des diffuseurs de bulles grosses ou une tubulure d'aération linéaire. Les taux d'aération préférés sont au moins 0,01 vvm et au plus 1 vvm
- 10 (débit volumique de gaz par unité de volume de liquide par minute), de préférence au moins 0,05 vvm et au plus 1,0 vvm. Dans un mode de réalisation, lorsque la levure est *Saccharomyces*, telle que *Saccharomyces bayanus*, aucune aération n'est effectuée. Dans un autre mode de réalisation, lorsque la levure est *Kluyveromyces*, telle que *Kluyveromyces lactis*, une aération est effectuée.
- 15 Dans des modes de réalisation, chacun des procédés tels que présentement décrits peut comprendre en outre l'étape d'agitation de la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, de préférence après l'ajout de la levure telle que présentement définie et/ou pendant l'incubation avec la levure telle que
- 20 présentement définie. Il doit être entendu que le terme « agitation », dans le présent contexte, concerne un processus par lequel la composition telle que définie présentement est mis en œuvre, et par conséquent est mélangée. Au moyen d'une recommandation supplémentaire, l'agitation peut être effectuée par secousse, agitation, rotation, ou pompage cyclique du liquide. Par exemple, un agitateur magnétique ou un barreau d'agitation peut être utilisé pour effectuer l'agitation.
- 25 Dans d'autres modes de réalisation, chacun des procédés tels que présentement décrits peut comprendre en outre l'étape d'aération et d'agitation de la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, de préférence après l'ajout de la levure telle que présentement définie et/ou pendant l'incubation avec la levure telle que présentement définie, l'aération et l'agitation étant définies comme défini
- 30 ci-dessus. Il doit être entendu que l'aération peut comprendre l'agitation et réciproquement. Par exemple, l'introduction d'air dans la composition peut mettre la composition en mouvement et effectuer ainsi l'agitation. L'autre méthode, par exemple l'agitation au moyen d'une hélice peut introduire simultanément de l'air dans la composition.

Dans d'autres modes de réalisation, chacun des procédés tels que présentement décrits peut comprendre en outre l'étape de retrait de la levure après l'étape d'incubation, de préférence après un temps spécifié comme présentement défini par ailleurs, tel que, par exemple, également indiqué dans le tableau 2. Le retrait de levure des compositions après incubation comme présentement défini est connu dans l'art. Sans limitation, le
5 retrait de la levure peut être effectué par, par exemple, centrifugation, décantation, et/ou filtration.

Dans certains modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec l'au moins une levure telle que définie
10 présentement à une température au-dessus du point de congélation de ladite composition, de préférence à une température qui est optimale pour la levure respective, de préférence à une température 10 °C au-dessus ou au-dessous de la température qui est optimale pour la levure respective. Des températures optimales pour les levures telles que définies
15 présentement sont connues dans l'art. À titre de recommandation supplémentaire, et sans limitation, une température optimale telle que présentement définie désigne la température à laquelle la croissance est maximisée. Dans un mode de réalisation préféré, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la levure telle que
20 présentement définie est incubée avec la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, à une température d'au moins -5 °C. Dans un mode de réalisation préféré, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la levure telle que présentement définie est incubée avec la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du
25 saccharose, à une température d'au plus 40 °C. Dans un mode de réalisation préféré, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la levure telle que présentement définie est incubée avec la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, à une température d'au moins -5 °C et d'au plus 40 °C, plus préférentiellement à une température d'au moins 2 °C et d'au plus 35 °C. Dans un autre mode de réalisation préféré, l'incubation est effectuée à
30 une température d'au moins 15 °C et au plus 35 °C, par exemple d'au moins 20 °C et d'au plus 30 °C, par exemple 30 °C ou environ 30 °C. Dans un autre mode de réalisation préféré supplémentaire, l'incubation est effectuée à une température d'au moins -5 °C et d'au plus 15 °C, par exemple d'au moins 4 °C et d'au plus 10 °C.

Dans des modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits,
35 la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du

saccharose, est incubée avec au moins une levure telle que présentement définie pendant au moins 5 heures, par exemple pendant au moins 10 heures, au moins 15 heures ; au moins 50 heures, par exemple au moins 75 heures ; au moins 4 jours (c'est-à-dire 4 x 24 heures), par exemple au moins 10 jours ; au moins 30 jours, par exemple au moins 60 jours, ou au moins 90 jours, ou au moins 120 jours. Dans des modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie pendant au plus 12 mois, par exemple pendant au plus 6 mois, par exemple au plus 4 mois, par exemple au plus 180 jours, par exemple au plus 150 jours, par exemple au plus 30 jours (c'est-à-dire 30 x 24 heures), par exemple au plus 20 jours ; au plus 150 heures, au plus 125 heures ; au plus 50 heures, par exemple au plus 30 heures, ou au plus 25 heures.

Dans des modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie pendant au moins 5 heures et au plus 12 mois, de préférence pendant au moins 5 heures et au plus 6 mois, par exemple au moins 5 heures et au plus 4 mois, par exemple au moins 10 heures et au plus 30 heures ou au moins 15 heures et au plus 25 heures ; au moins 50 heures et au plus 150 heures, par exemple au moins 75 heures et au plus 125 heures ; au moins 4 jours (c'est-à-dire 4 x 24 heures) et au plus 30 jours (c'est-à-dire 30 x 24 heures), par exemple au moins 10 et au plus 20 jours ; au moins 30 jours et au plus 180 jours, par exemple au moins 60 jours et 150 jours, ou au moins 90 jours et au plus 180 jours, ou au moins 120 et au plus 150 jours.

Les combinaisons préférées de température et de temps d'incubation des compositions comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, avec l'au moins une levure telle que présentement décrite sont illustrées en tant que modes de réalisation dans le tableau 2.

Tableau 2

Mode de réalisation	Température (°C)	Time
1a	-5 à 10	≥ 8 jours par exemple 8 jours-12 mois
2a	4 à 12	≥ 5 jours par exemple 5 jours-12 mois
3a	6 à 16	≥ 3 jours par exemple 3 jours-6 mois

4a	8 à 20	≥ 1 jour par exemple 1 jour -60 jours
5a	15 à 20	≥ 1 jour par exemple 1-15 jours
6a	17 à 25	≥ 5 heures par exemple 5 heures – 10 jours
7a	20 à 30	≥ 5 heures par exemple 5 heures – 7 jours
8a	25 à 35	≥ 5 heures par exemple 5 heures – 5 jours
9a	30 à 35	≥ 5 heures par exemple 5 heures - 5 jours

- Dans d'autres modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie pendant un temps suffisant pour réduire un ou plusieurs du poids total initial ou la concentration (sur la base du poids sec) de sucres libres (comprenant le saccharose) d'au moins 10 %. Cette réduction peut être obtenue en utilisant une ou plusieurs étapes d'incubation. De préférence, ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est incubée avec ladite au moins une levure jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 20 % du poids initial de sucres libres (comprenant du saccharose) dans ladite composition soit obtenue, par exemple au moins 30 %, par exemple au moins 40 %, par exemple au moins 50 % ; par exemple d'au moins 60 %, par exemple d'au moins 70 %, par exemple d'au moins 80 %, de préférence au moins 90 %, de préférence au moins 95 %, par exemple au moins 98 %, par exemple une réduction d'au moins 99 %. Dans d'autres modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie pendant un temps suffisant pour réduire la concentration de fructose (sur la base du poids sec) d'au moins 10 %, par exemple au moins 20 %, par exemple au moins 30 %, par exemple au moins 40 %, par exemple au moins 50 % ; par exemple d'au moins 60 %, par exemple d'au moins 70 %, par exemple d'au moins 80 %, de préférence au moins 90 %, de préférence au moins 95 %, par exemple au moins 98 %, par exemple une réduction d'au moins 99 %. Dans d'autres modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie pendant un temps

suffisant pour réduire la concentration de glucose (sur la base du poids sec) d'au moins 10 %, par exemple au moins 20 %, par exemple au moins 30 %, par exemple au moins 40 %, par exemple au moins 50 % ; par exemple d'au moins 60 %, par exemple d'au moins 70 %, par exemple d'au moins 80 %, de préférence au moins 90 %, de préférence

5 au moins 95 %, par exemple au moins 98 %, par exemple une réduction d'au moins 99 %. Dans d'autres modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructane et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubé avec la levure telle que présentement définie pendant un temps suffisant pour réduire la concentration de saccharose (sur la base du

10 poids sec) d'au moins 10 %, par exemple au moins 20 %, par exemple au moins 30 %, par exemple au moins 40 %, par exemple au moins 50 % ; par exemple d'au moins 60 %, par exemple d'au moins 70 %, par exemple d'au moins 80 %, de préférence au moins 90 %, de préférence au moins 95 %, par exemple au moins 98 %, par exemple une réduction d'au moins 99 %. Dans d'autres modes de réalisation, dans chacun des

15 procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructane et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie pendant un temps suffisant pour réduire la concentration combinée de fructose et de glucose (sur la base du poids sec) d'au moins 10 %, par exemple au moins 20 %, par exemple au moins 30 %, par exemple au moins 40 %, par

20 exemple au moins 50 % ; par exemple d'au moins 60 %, par exemple d'au moins 70 %, par exemple d'au moins 80 %, de préférence au moins 90 %, de préférence au moins 95 %, par exemple au moins 98 %, par exemple une réduction d'au moins 99 % en poids. Dans d'autres modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructane et du saccharose, de

25 préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie pendant un temps suffisant pour réduire la concentration combinée de fructose et de saccharose (sur la base du poids sec) d'au moins 10 %, par exemple au moins 20 %, par exemple au moins 30 %, par exemple au moins 40 %, par exemple au moins 50 % ; par exemple d'au moins 60 %, par exemple d'au moins 70 %, par exemple

30 d'au moins 80 %, de préférence au moins 90 %, de préférence au moins 95 %, par exemple au moins 98 %, par exemple une réduction d'au moins 99 %. Dans d'autres modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructane et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie pendant un temps

35 suffisant pour réduire la concentration combinée de glucose et de saccharose (sur la base du poids sec) d'au moins 10 %, par exemple au moins 20 %, par exemple au moins 30 %,

par exemple au moins 40 %, par exemple au moins 50 % ; par exemple d'au moins 60 %, par exemple d'au moins 70 %, par exemple d'au moins 80 %, de préférence au moins 90 %, de préférence au moins 95 %, par exemple au moins 98 %, par exemple une réduction d'au moins 99 %. Dans d'autres modes de réalisation, dans chacun des
5 procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie pendant un temps suffisant pour réduire la concentration combinée de fructose, de glucose et de saccharose (sur la base du poids sec) d'au moins
10 10 %, par exemple au moins 20 %, par exemple au moins 30 %, par exemple au moins 40 %, par exemple au moins 50 % ; par exemple d'au moins 60 %, par exemple d'au moins 70 %, par exemple d'au moins 80 %, de préférence au moins 90 %, de préférence au moins 95 %, par exemple au moins 98 %, par exemple une réduction d'au moins 99 %. Les temps nécessaires pour atteindre les concentrations de sucre libre (comprenant le saccharose) définies peuvent être déterminés de façon empirique, comme il est connu
15 dans l'art.

Dans des modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie à un pH au moins 2,5, de préférence au moins 3,0. Dans des modes de réalisation, dans chacun des
20 procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, la levure telle que présentement définie est incubée avec la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose ; à un pH d'au moins 2,5, par exemple au moins 3,0, par exemple au moins 3,5, par exemple au moins 4,0 par exemple au moins 5,0.

25 Dans des modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie à un pH d'au plus 8,5, de préférence au plus 7,5. Dans des modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du
30 saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, la levure telle que présentement définie est incubée avec la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, à un pH d'au plus 8,0, par exemple au plus 7,5, par exemple au plus 7,0, par exemple au plus 6,5 par exemple au plus 6,0. Dans des modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la
35 composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie à un pH d'au moins

2,5 et au plus 8,0, de préférence au moins 3,0 et au plus 7,5. Dans des modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, la levure telle que présentement définie est incubée avec la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, à un pH d'au moins 4 et au plus 7,0, par exemple au moins 4,5 et au plus 6,0, par exemple au moins 5 et au plus 7,0, par exemple au moins 5,5 et au plus 7,0. Le pH peut être défini et maintenu comme il est connu dans l'art.

Dans des modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie, au moins 10^3 UFC de levure étant ajoutés au début de l'incubation par ml de composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose. Dans des modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie, au plus 10^{10} UFC de levure étant ajoutés au début de l'incubation par ml de composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose. Dans des modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie, au moins 10^3 UFC et au plus 10^{10} unités formant des colonies UFC de levure étant ajoutés au début de l'incubation par ml de composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose. Les unités formant des colonies sont connues dans l'art et peuvent, par exemple, être déterminées par comptage de plaque. Par exemple, il peut être ajouté aux compositions telles que présentement définies, au moins 10^3 UFC/ml et au plus 10^9 UFC/ml, par exemple au moins 10^4 UFC/ml et au plus 10^9 UFC/ml, par exemple au moins 10^5 UFC/ml et au plus 10^9 UFC/ml, par exemple au moins 10^4 UFC/ml et au plus 10^8 UFC/ml, par exemple au moins 10^5 UFC/ml et au plus 10^8 UFC/ml. Avantagusement, les concentrations ci-dessus de levure peuvent être combinées avec les modes de réalisation spécifiques de temps et de température telles que décrites dans le tableau 2, ou les temps ou températures spécifiques tels que précédemment décrits.

Dans des modes de réalisation, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du

saccharose, est incubée avec la levure telle que présentement définie, la levure étant fournie sous forme de lysats de levure ou un extrait de la levure, tel qu'un extrait de protéine ou d'enzyme. Il doit être entendu que pour déterminer la quantité de tels lysats ou extrait, les quantités correspondantes en quantité d'UFC/ml comme décrit ci-dessus

5 doivent être incubées avec les compositions.

Dans un mode de réalisation préféré entre tous, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition est une composition liquide comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, qui est incubée avec *Saccharomyces*, de préférence *Saccharomyces bayanus*, de préférence *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, la composition comprenant au moins 1 % en poids et au plus 70 %

10 en poids (sur la base de la matière sèche) de saccharose et d'autres sucres libres (comprenant du saccharose), de préférence au moins 1 % en poids et au plus 70 % en poids (sur la base de la matière sèche) de saccharose et l'un ou plusieurs du fructose, et du glucose, de préférence un mélange de tous, sur la base du poids total de la matière

15 sèche de la composition.

Dans un autre mode de réalisation préféré entre tous, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition est une composition liquide comprenant du fructose et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, de manière préférée entre toutes comprenant au moins 30 % en poids de fructose, de préférence l'inuline, sur la

20 base du poids total de matière sèche de la composition, et de préférence comprenant au moins 1 % en poids et au plus 75 % en poids (sur la base de la matière sèche) de saccharose et facultativement d'autres sucres libres (comprenant du saccharose), plus préférentiellement comprenant au moins 1 % en poids et au plus 75 % en poids (sur la base de la matière sèche) de saccharose et un ou plusieurs de fructose et glucose, de

25 préférence un mélange de tous. De préférence, la composition est incubée avec *Saccharomyces bayanus*, de préférence *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, à une température d'au moins -5 °C et au plus 40 °C, de préférence à une température d'au moins 0,0 °C et au plus 35 °C.

Dans un autre mode de réalisation préféré entre tous, dans chacun des procédés tels que présentement décrits, la composition est une composition liquide comprenant du fructose

30 et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, de manière préférée entre toutes au moins 30 % en poids et au plus 99 % en poids de fructose, de préférence l'inuline, sur la base du poids total de matière sèche de la composition, ladite composition étant incubée avec *Saccharomyces bayanus*, de préférence *Saccharomyces bayanus* var.

35 *uvarum*, la composition comprenant au moins 1 % en poids et au plus 75 % en poids (sur

la base de la matière sèche) de saccharose et facultativement d'autres sucres libres, de préférence le saccharose et l'un ou plusieurs du fructose et du glucose, de préférence un mélange de tous, ladite composition étant incubée à une température d'au moins -5 °C et au plus 40 °C, de préférence à une température d'au moins 0,0 °C et au plus 35 °C.

- 5 Dans un aspect, l'invention concerne en outre une composition comprenant du fructane et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose et au moins une levure choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces bayanus* (de préférence *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*), *Kluyveromyces lactis* (de préférence *Kluyveromyces lactis* var. *drosophylarum*, de manière préférée entre toutes
- 10 *Kluyveromyces lactis* var. *drosophylarum* CBS 2103 (obtenu auprès du centre de biodiversité fongique CBS-KNAW, Utrecht, Pays-Bas). Dans un mode de réalisation préféré, la levure est *Saccharomyces bayanus*, de préférence *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*. Les modes de réalisation décrits précédemment en ce qui concerne les compositions de fructane (en particulier en ce qui concerne le type, la quantité, l'origine, la
- 15 composition, DP, ainsi que les modes de réalisation liés aux sucres libres, leurs types, et quantités) s'appliquent également aux compositions de cet aspect.

Dans un autre aspect, l'invention concerne une levure déposée dans les Collections coordonnées belges de micro-organismes (BCCM) avec le numéro d'ordre MUCL 55125. Il doit être entendu que cette levure est préférée entre toutes dans les compositions,

20 procédés et utilisations selon l'invention tels que présentement décrits par ailleurs.

La présente invention comprend en outre une composition comprenant du fructane, du saccharose et au moins une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, et *Kluyveromyces lactis*, ladite composition comprenant au moins 30 % en poids de fructane sur la base du poids total de matière

25 sèche de ladite composition.

Dans un autre aspect supplémentaire, l'invention concerne l'utilisation d'une levure pour enlever, réduire, ou éliminer des sucres, de préférence des sucres libres, plus préféablement des monomères de glucide et/ou dimères de glucide, de manière préférée entre toutes des monomères ou dimères d'hexose et/ou pentose dans une composition

30 comprenant du fructane et du saccharose, de préférence de l'inuline et du saccharose, ladite levure étant choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces*; de préférence choisie dans le groupe comprenant ou constitué de *Saccharomyces bayanus*; *Saccharomyces cerevisiae*; *Kluyveromyces lactis*; *Saccharomyces boulardii*; encore plus préféablement *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, (par exemple *Saccharomyces bayanus* MUCL 55125 (déposé au BCCM/MUCL

35

Louvain-La-Neuve) ou MUCL 31491 (obtenu auprès du BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* (par exemple, *S. bayanus* MUCL 31495 (obtenu auprès du BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces cerevisiae* (par exemple *S. cerevisiae* w-34/70 (obtenu auprès de Fermentis, groupe Lesaffre), *Saccharomyces*
5 *boulardii* (obtenu auprès d'Enterol®, biocodex gamma) et *Kluyveromyces lactis* var. *drosophylarum*, (de manière préférée entre toutes *Kluyveromyces lactis* var. *drosophylarum* CBS 2103 (obtenu auprès du centre de biodiversité fongique CBS-KNAW, Utrecht, Pays-Bas) ; encore plus préférablement *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, (par exemple *Saccharomyces bayanus* MUCL 55125 (déposé au BCCM/MUCL Louvain-
10 La-Neuve) ou MUCL 31491 (obtenu in BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* (par exemple, *S. bayanus* MUCL 31495 (obtenu in BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces cerevisiae* (par exemple *S. cerevisiae* w-34/70 (obtenu auprès de Fermentis, groupe Lesaffre), *Saccharomyces boulardii* (obtenu auprès d'Enterol®, biocodex gamma) ; encore plus préférablement *Saccharomyces bayanus* var.
15 *uvarum* MUCL 55125 (déposé au BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve). De préférence, les sucres libres sont choisis parmi l'un ou plusieurs des fructose, glucose, et saccharose, de préférence tous. Les modes de réalisation précédemment décrits en ce qui concerne les compositions de fructane (en particulier en ce qui concerne le type, la quantité, l'origine, la composition, le DP (moyen), ainsi que les modes de réalisation associés aux sucres libres,
20 leurs types, et quantités), ainsi que le temps et la température d'incubation s'appliquent également aux compositions de cet aspect.

La présente invention comprend en outre l'utilisation d'une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* pour réduire la quantité de saccharose dans une composition comprenant du saccharose et au moins 30 % en poids de fructane
25 sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition.

Les aspects et modes de réalisation de l'invention sont illustrés plus avant par les exemples non limitatifs suivants.

EXEMPLES

Protocoles

30 Mesure de la matière sèche

La matière sèche totale est déterminée de façon gravimétrique en tant que résidu restant après séchage. L'humidité est évaporée à partir d'un échantillon par séchage à l'étuve.

- 5 g d'échantillon sont pesés dans une coupelle en aluminium sèche précédemment pesée (balance de précision Ohaus, capacité 410 g, sensibilité 0,001 g). L'échantillon est placé dans une étuve à 103 °C jusqu'à ce que le poids résiduel reste constant (au moins 24 h). L'échantillon est refroidi dans un dessiccateur pendant 1 h et ensuite immédiatement pesé. Les résultats sont exprimés en % (g de matière sèche par 100 g d'échantillon).

$$\text{Matière sèche (\%)} = (m_3 - m_1)/(m_2 - m_1) \times 100$$

m_1 = poids de la coupelle en aluminium sèche (en g)

m_2 = poids de la coupelle en aluminium avec l'échantillon avant séchage (en g)

m_3 = poids de la coupelle en aluminium avec l'échantillon après séchage (en g)

10 **Détermination de la distribution de masse moléculaire de l'inuline**

- La détermination de la distribution de masse moléculaire de l'échantillon de fructane est effectuée par chromatographie d'échange d'anions haute performance couplée à la détection ampérométrique puisée (HPAEC-PAD) sur un système de chromatographie Thermo Scientific - Dionex ICS 5000. La séparation des différentes longueurs de chaîne est effectuée avec une colonne Carbowac PA100 4 mm x 250 mm (+ précolonne) à 40 °C avec un débit de 1 ml/min. De l'hydroxyde de sodium 160 mM est utilisé en tant qu'éluant. Un gradient d'acétate de sodium pendant l'essai permet de séparer les différentes longueurs de chaîne. Le logiciel permet de déterminer chaque aire de pic correspondant en nC*min.

20 *Détermination du D_p moyen en nombre*

Différentes concentrations d'une inuline standard sont injectés afin d'assigner les pics dans le chromatogramme sur la base du temps de rétention du standard et pour tracer les courbes d'étalonnage.

- Les courbes d'étalonnage permettent de déterminer la concentration en masse de chaque espèce moléculaire d'inuline dans l'échantillon C_i . La concentration molaire (N_i) des molécules ayant i résidus est calculée sous la forme C_i/MW_i , où MW_i est le poids moléculaire des molécules ayant i résidus.

Le degré de polymérisation moyen en nombre $\overline{Dp_n}$ est calculé par

$$\overline{Dp_n} = \frac{\sum_i N_i Dp_i}{\sum_i N_i}$$

- 30 où Dp_i est le nombre de résidus.

Détermination des sucres libres

Dans un flacon pesé (Schott), environ 5 g d'un échantillon représentatif (m_4 à 0,001 g) sont pesés précisément. Ensuite, environ 10 g de tampon phosphate (0,1 M) à pH=7,0 sont ajoutés et l'échantillon est chauffé à 80 °C pendant 15 minutes dans un bain-marie.

- 5 Ensuite, l'échantillon est refroidi à température ambiante et le poids total de la solution est amené à 40 g avec de l'eau déminéralisée (m_5 à 0,001 g).

Le premier facteur de dilution est $D1 = m_5/m_4$.

Finalement, des dilutions appropriées ($D2$) pour les analyses HPAEC-PAD avec un étalonnage adapté (glucose, fructose, saccharose) sont effectuées.

- 10 Les quantités de glucose libre, de fructose libre et de saccharose libre sont déterminées en multipliant les résultats de HPAEC-PAD par $D1 \cdot D2$ et sont exprimées en g/kg de l'échantillon ou en % en poids sur la base de la matière sèche.

Détermination de la quantité d'inuline*Principe*

- 15 La quantité d'inuline est déterminée à partir de la quantité de glucose et de fructose libérée par hydrolyse enzymatique. Les glucose, fructose et saccharose libres sont dans un premier temps déterminés sur un échantillon représentatif non hydrolysé. Ensuite, l'hydrolyse enzymatique est effectuée et le glucose et le fructose total sont déterminés. Les quantités libérées sont obtenues par différence en tenant compte des quantités de
- 20 glucose et de fructose libérées à partir du saccharose.

Le procédé est basé sur le procédé AOAC997.08 avec de légères adaptations comme décrit ci-dessous.

Détermination des sucres libres

- Les quantités de glucose libre (G_f), de fructose libre (F_f) et de saccharose libre (S) sont
- 25 déterminées par HPAEC-PAD comme décrit ci-dessus.

Hydrolyse enzymatique – détermination du fructose total et du glucose total

- Dans un bécher pesé, environ 1 g d'un échantillon représentatif (m_6 à 0,001 g) est précisément pesé. Ensuite, environ 20 g de tampon acétate (0,1 M) à pH 4,75 est ajouté et le mélange est homogénéisé. Ensuite, l'échantillon est chauffé à 80 °C pendant
- 30 15 minutes dans un bain-marie et est refroidi à 60 °C dans un bain-marie (laissé à s'équilibrer). Ensuite, 50 µl de Fructozyme (Novozym SP 230®, Novo Nordisk) sont ajoutés et le mélange est homogénéisé. Ensuite, le flacon est fermé et le mélange est

incubé dans un bain-marie à 60 °C pendant 2 heures. L'échantillon est refroidi à température ambiante et la masse de la solution est amenée à 40 g avec de l'eau déminéralisée (m_7 à 0,001 g). Finalement, l'échantillon est homogénéisé.

Le premier facteur de dilution est $D_3 = m_7/m_6$

- 5 Des dilutions appropriées (D_4) pour les analyses HPAEC-PAD avec un étalonnage adapté (glucose et fructose) sont effectuées.

Les quantités de glucose total (G_t) et de fructose total (F_t) sont déterminées par multiplication des résultats de HPAEC-PAD par $D_3 \cdot D_4$ et sont exprimées en g/kg de la composition initiale.

10 *Calculs*

Le glucose libéré à partir de la fraction d'inuline est $G_i = G_t - G_f - S/1,9$ (en g/kg)

Le fructose libéré à partir de la fraction d'inuline est $F_i = F_t - F_f - S/1,9$ (en g/kg)

La quantité d'inuline dans l'échantillon est $k(G_i + F_i)$

où k est un facteur prenant en compte l'augmentation de matière sèche due à l'hydrolyse de l'inuline. Dans nos exemples, k est défini à 0,91.

15

Perte d'inuline

La perte d'inuline est définie comme étant la différence entre la quantité d'inuline avant et après incubation avec une levure exprimée en pourcentage de masse de la quantité initiale.

20 **Détermination des acides organiques**

La détermination de la concentration d'acide organique est effectuée par un système de chromatographie liquide haute performance (LCM1 Waters) comprenant un détecteur UV (Waters 2487), un injecteur automatique (Waters 717) et un contrôleur (Waters 600). La séparation de pics est effectuée par une colonne HPX-87H Biorad à 65 °C avec un débit de 0,8 ml/min. H_2SO_4 0,0045 N est utilisé en tant qu'éluant.

25

La droite d'étalonnage est obtenue par injection de 10 μ l, 25 μ l, 40 μ l, 50 μ l d'une solution mère de 1 g/l de différents acides à doser. Les courbes d'étalonnage permettent la détermination de la concentration de chaque espèce moléculaire dans l'échantillon. 25 μ l de l'échantillon sont injectés pour une durée d'analyse de 20 minutes.

Détermination des alcools et des composants volatils

La détermination des alcools et des composants volatils est effectuée par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur FID sur un système chromatographique Perkin-Elmer 8000. La séparation de pics est effectuée avec une colonne CP WAX-52.

- 5 L'analyse est effectuée en utilisant la technique d'espace de tête. La phase gazeuse en équilibre avec la phase liquide est injectée en chromatographie gazeuse selon un programme de température (préchauffage : 60 °C/20 min ; chauffage : augmentation de 60° par minute jusqu'à 110° ; température d'injecteur (HS40 Perkin-Elmer) : 110 °C ; température de détecteur FID : 250 °C).
- 10 Des mélanges de standards de composants volatils à différentes concentrations sont injectés afin de tracer les courbes d'étalonnage et assigner les pics dans le chromatogramme sur la base du temps de rétention du standard. Les courbes d'étalonnage permettent de déterminer la concentration de chaque espèce moléculaire dans l'échantillon.
- 15 **Préparation de compositions comprenant du fructose et du saccharose (extrait riche en inuline) - étape (a).**

Compositions A1-A3

- Des racines de chicorée sont lavées et découpées en cossettes. La diffusion à contre-courant avec de l'eau chaude (70 °C) est ensuite utilisée pour extraire l'inuline à partir des cossettes. Le rapport des cossettes à l'eau est 1. Le temps d'extraction est 2 heures. Le jus résultant contenant de l'inuline en solution est grossièrement filtré afin d'enlever les cossettes épuisées. Le jus résultant est ensuite filtré pour enlever le petit matériau insoluble. Le pH est ajusté à 4 avec du HCl 25 %. Une étape de concentration à 100 °C pendant 1 heure permet d'augmenter la matière sèche à 40 % p/p, de manière à préparer des compositions A1-A3.
- 20
- 25

Composition F

- Des racines de chicorée sont lavées et découpées en cossettes. La diffusion à contre-courant avec de l'eau chaude (70 °C) est ensuite utilisée pour extraire l'inuline à partir des cossettes. Le rapport des cossettes à l'eau est 1. Le temps d'extraction est 2 heures. Le jus résultant contenant de l'inuline en solution est grossièrement filtré afin d'enlever les cossettes épuisées. Le jus résultant est ensuite filtré pour enlever le petit matériau insoluble. Une étape de concentration à 100 °C pendant 1 heure permet d'augmenter la matière sèche à 40 % p/p, de manière à préparer la composition F.
- 30

**Préparation de compositions comprenant du fructose et du saccharose
(compositions riches en inuline) – étape (a)**

Compositions B1-B7

217 g de Fibruline® Instant (commercialisé par Cosucra Groupe Warcoing) sont mis en
5 suspension dans 1 kg de solution de tampon phosphate pH 5,8.

Le tampon phosphate est préparé comme suit : 467,5 ml de solution de KH_2PO_4 0,2 mol/l
et 32,5 ml de K_2HPO_4 0,2 mol/l sont mélangés. Ensuite, le mélange est amené à 1 l avec
de l'eau distillée.

90 g de la suspension de Fibruline® Instant sont placés dans une fiole de 250 ml et
10 stérilisés (20 min, 121 °C), de manière à préparer des compositions B1-B7.

Composition C

434 g de Fibruline® Instant (commercialisé par Cosucra Groupe Warcoing) sont mis en
suspension dans 2 kg d'eau déminéralisée. Ensuite, 1800 g de la suspension de
Fibruline® Instant sont ajoutés dans le bioréacteur de 2 l et stérilisés (20 min, 121 °C), de
15 manière à préparer la composition C.

Composition D

31,5 kg de Fibrulose® F90 (commercialisé par Cosucra Groupe Warcoing) sont mis en
suspension dans 40 kg d'eau déminéralisée. Ensuite, 40 kg de la suspension de
Fibrulose® F90 sont ajoutés dans un fût de 60 l, de manière à préparer la composition D.
20 La composition D n'est pas stérilisée.

Composition E

10,5 kg de Fibrulose® F90 (commercialisé par Cosucra Groupe Warcoing) sont mis en
suspension dans 40 kg d'eau déminéralisée. Ensuite, 40 kg de la suspension de
Fibrulose® F90 sont ajoutés dans le fût de 60 l, de manière à préparer la composition E.
25 La composition E n'est pas stérilisée.

Les concentrations d'inuline et de sucres libres des compositions A-F sont présentées
dans le tableau 3.

Tableau 3

Composition	Matière sèche % p/p sur la base du poids total de la composition	Inuline % p/p sur la base de la matière sèche totale	Glucose % p/p sur la base de la matière sèche totale	Fructose % p/p sur la base de la matière sèche totale	Saccharose % p/p sur la base de la matière sèche totale
A1	40	64,1	1,4	13,2	7,3
A2	40	62,3	1,6	14,2	7,9
A3	40	62,1	1,7	13,9	8,3
B1	17	88,8	1,0	4,3	5,9
B2	17	89,1	1,1	4,1	5,7
B3	17	88,7	1,0	4,4	5,9
B4	17	88,4	1,0	4,5	6,1
B5	17	89,4	0,9	3,8	5,9
B6	17	89,3	1,0	3,9	5,8
B7	17	88,3	1,0	3,6	7,1
C	17	89,7	0,8	3,3	6,2
D	42	89,9	0,7	3,0	6,4
E	20	88,1	1,1	4,2	6,6
F	40	78,9	0,3	1,3	5,5

Exemple 1 : spécificité de différentes levures pour une composition comprenant de l'inuline, du saccharose et d'autres sucres libres - étape (b).

- 5 Un extrait de solution de levure est préparé comme suit : 10 g d'extrait de levure (Merck) sont dissous dans 100 ml d'eau déminéralisée. Ensuite, la solution est stérilisée (20 min, 121 °C).

10 g de la solution d'extrait de levure stérilisée sont ajoutés à 90 g de composition B1-B5 respectivement. Aucune aération supplémentaire n'est appliquée.

- 10 Les compositions B1-B5, supplémentées avec de l'extrait de levure, sont inoculées à une concentration de 10^5 UFC/ml avec différentes levures, respectivement : *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70 (de Fermentis, groupe Lesaffre), *Kluyveromyces lactis* CBS 2103 (du centre de biodiversité fongique CBS-KNAW, Utrecht, Pays-Bas), *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495 (de MUCL Louvain-La-Neuve, Belgique),
- 15 *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491 (de MUCL Louvain-La-Neuve, Belgique) et *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (déposé dans les Collections coordonnées belges de micro-organismes (BCCM) sous le numéro d'ordre MUCL 55125). Les compositions sont incubées à différentes températures (20 °C et 30 °C) sous agitation à une vitesse de 160 r/min. Les résultats de ces essais sont présentés sur
- 20 les figures 1 à 15.

Les figures 1, 2, 3 et 4 représentent la croissance (mesurée par la densité optique à 660 nm) au cours du temps à 30 °C de *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70, *Kluyveromyces lactis* CBS 2103, *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495, et *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491, respectivement, incubés avec les compositions B1-B4 respectivement dans une fiole de 250 ml.

La figure 5 représente la croissance (mesurée par la densité optique à 660 nm) au cours du temps à 30 °C et à 20 °C de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 incubé avec la composition B5 dans la fiole de 250 ml.

Les figures 6, 8, 10, 12 et 14 représentent l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 30 °C des compositions B1-B5 respectivement incubées avec *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70, *Kluyveromyces lactis* CBS 2103, *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495, *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491 et *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 respectivement dans une fiole de 250 ml. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p sur la base de la matière sèche totale).

Les figures 7, 9, 11, 13 et 15 représentent l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 30 °C des compositions B1-B5 respectivement incubées avec *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70, *Kluyveromyces lactis* CBS 2103, *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495, *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491 et *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 respectivement dans une fiole de 250 ml. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) –normalisée en fonction de la dilution de la composition).

À partir des figures 6 à 15, il apparaît clairement que *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* sont efficaces pour dégrader des sucres libres. À partir des figures, il peut être observé que *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 dégrade les sucres libres plus rapidement que *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70, *Kluyveromyces lactis* CBS 2103, *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495 et *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491, et/ou a une spécificité plus élevée pour les sucres libres que pour l'inuline.

Des exemples non limitatifs de conditions optimales sont présentés dans le tableau 4. Ces conditions permettent la dégradation d'une quantité de sucres libres et une dégradation limitée de l'inuline.

Tableau 4

Souche	Température (°C)	Durée de fermentation (h)	Glucose résiduel (% en poids de matière sèche)	Fructose résiduel (% en poids de matière sèche)	Saccharose résiduel (% en poids de matière sèche)	Sucres libres résiduels totaux (% en poids de matière sèche)	Perte d'inuline (%)
<i>Kluyveromyces lactis</i> CBS 2103	30	30-35h	0-0,5	1,5-2,5	0-0,5	2-3	5-10
<i>Saccharomyces bayanus</i> MUCL 55125	30	30-35h	0-0,1	0-0,5	0	0-0,5	<5
<i>Saccharomyces bayanus</i> MUCL 31491	30	40-45h	0-0,1	0-0,5	0	0-0,5	<5
<i>Saccharomyces bayanus</i> MUCL 31495	30	40-45h	0-0,5	1-2,5	0-0,5	1-3	5-10
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> w-34/70	30	30-35h	0-0,5	1,5-2,5	0-0,5	2-3	5-10

Exemple 2 : incubation d'une composition comprenant de l'inuline et du saccharose avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 – (étape b)

Exemple dans un bioréacteur de 2 l

- 5 Une solution d'extrait de levure est préparée comme suit : 20 g d'extrait de levure (Merck) sont dissous dans 200 ml d'eau déminéralisée et stérilisés (20 min, 121 °C).

200 g de la solution d'extrait de levure stérilisée est ajoutée dans un bioréacteur de 2 l contenant 1800 g de la composition C.

- Aucune aération supplémentaire n'est effectuée. Le pH de la composition est maintenu à une valeur de 5 au moyen d'une pompe péristaltique distribuant une solution basique contenant de l'hydroxyde de sodium à 10 mol/l et une solution acide contenant de l'acide phosphorique à 30 % vol/vol.
- 10

- La composition C, supplémentée avec de l'extrait de levure, est incubée à une concentration de 10^5 UFC/ml à 30 °C sous agitation à une vitesse de 160 r/min avec
- 15 *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125.

Après 62 h, la perte d'inuline est inférieure à 2 %.

La figure 16 représente la croissance (mesurée par la densité optique) au cours du temps à 30 °C de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 incubé avec la composition C dans un bioréacteur de 2 l.

La figure 17 représente l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 30 °C de la composition C incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 dans un bioréacteur de 2 l. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p sur la base de la matière sèche totale).

- 5 La figure 18 représente l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 30 °C de la composition C incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 dans un bioréacteur de 2 l. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

10 Exemple dans un fût de 60 l

40 g d'extrait de levure (Merck) sont dissous dans 100 ml d'eau déminéralisée. Ensuite, la solution est stérilisée (20 min, 121 °C) et ajoutée à 40 kg de composition D.

Aucune aération supplémentaire n'est effectuée. Le pH n'est pas régulé.

- 15 La composition D, supplémentée avec de l'extrait de levure, est inoculée à une concentration de 10^5 UFC/ml à 20 °C sous agitation avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125.

- 20 La figure 19 représente l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 20 °C de composition D incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 dans un fût de 60 l. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p sur la base de la matière sèche totale).

- 25 La figure 20 représente l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 20 °C de la composition D incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 dans un fût de 60 l. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

Après 150 h, la perte d'inuline pour la composition D est inférieure à 2 %.

40 g d'extrait de levure (Merck) sont dissous dans 100 ml d'eau déminéralisée. Ensuite, la solution est stérilisée (20 min, 121 °C) et ajoutée à 40 kg de composition E.

Aucune aération supplémentaire n'est effectuée. Le pH n'est pas régulé.

- 30 La composition E, supplémentée avec de l'extrait de levure, est inoculée à une concentration de 10^5 UFC/ml à 20 °C sans agitation avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125.

La figure 21 représente l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 20 °C de composition E incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 dans un fût de 60 l. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p).

- 5 La figure 22 représente l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 20 °C de la composition E incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 dans un fût de 60 l. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).
- 10 Après 50 h, la perte d'inuline pour la composition E est inférieure à 4 %.

Exemple 3 : incubation d'une composition comprenant de l'inuline et du saccharose, avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* (MUCL 55125) – étape (b)

- 2 kg de composition A1 sont inoculés à une concentration de 10^5 UFC/ml avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 et incubés à différentes températures
15 (20 °C et 30 °C) avec une vitesse d'agitation de 160 r/min dans un bioréacteur de 2 l.

La composition A1 n'est pas stérilisée. Aucune source d'azote et aération supplémentaire n'est ajoutée. Le pH de la composition est maintenu à une valeur de 5 au moyen d'une pompe péristaltique distribuant une solution basique contenant de l'hydroxyde de sodium à 10 mol/l et une solution acide contenant de l'acide phosphorique à 30 % vol/vol.

- 20 La figure 23 représente la croissance à 30 °C (mesurée par la densité optique) au cours du temps de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 incubé avec la composition A1 dans un bioréacteur de 2 l.

- La figure 24 représente l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 20 °C (A) et à 30 °C (B) de la composition A1 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 in bioréacteur de 2 l. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p sur la base de la matière sèche totale).
25

- La figure 25 représente l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 20 °C (A) et 30 °C (B) de la composition A1 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 dans un bioréacteur de 2 l. Les
30 analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

Le tableau 5 présente la liste et la concentration de sous-produits isolés à partir de la composition A1 avant et après incubation avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 à 20 °C.

Tableau 5

Composition A incubée à 20 °C		
	Avant incubation	Après incubation
	ml/l	ml/l
Acétaldéhyde	0,0042	0,0155
Acétate d'éthyle	0,00052	0,0528
Propanol	0	0,0231
Isobutanol	0	0,0196
Alcool isoamylique	0,00266	0,0891
Éthanol	0	46
	g/l	g/l
Citrate	5,8	4,715
Pyruvate	0,075	0,27
Malate	4,85	5,64
Succinate	4,78	2,51
Lactate	1,63	1,46
Acétate	3,163	3,46
Propionate	0	0
Butyrate	0	0

- 5 Il peut être observé à partir des résultats du tableau 5 que l'incubation avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 produit principalement de l'éthanol en tant que produit de dégradation des sucres libres.

Exemple 4 : incubation d'une composition comprenant de l'inuline et du saccharose, avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125, à 4 °C – étape

10 (b)

1 kg de composition A2 est inoculé à une concentration de 10^5 UFC/ml avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 et incubé à 4 °C dans une fiole de 1 l avec une vitesse d'agitation de 110 r/min. La composition A2 n'est pas stérilisée. Aucune source d'azote et aération supplémentaire n'est ajoutée. Le pH n'est pas contrôlé.

- 15 La figure 26 représente l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 4 °C de la composition A2 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 dans une fiole de 1 l. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p sur la base de la matière sèche totale).

- 20 La figure 27 représente l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 4 °C de la composition A2 incubée avec *Saccharomyces*

bayanus var. *uvarum* MUCL 55125 dans une fiole de 1 l. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

- 5 Même à basse température, *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 est actif pour effectuer une dégradation adéquate des sucres libres (mais plus lentement) sans dégradation significative de l'inuline, comparé à des essais effectués à température ambiante (figures 24 et 25).

Exemple 5 : étude du métabolisme de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 avec aération – étape (b)

- 10 2 kg de composition A3 sont inoculés avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 à une concentration de 10^5 UFC/ml et incubés à 25 °C dans un bioréacteur de 2 l avec une vitesse d'agitation de 160 r/min et un taux d'aération de 1 l/min.

- La composition A3 n'est pas stérilisée. Aucune source d'azote supplémentaire n'est ajoutée. Le pH de la composition A3 est maintenu à une valeur de 5 au moyen d'une
15 pompe péristaltique distribuant une solution basique sous forme d'hydroxyde de sodium 10 mol/l et une solution acide sous forme d'acide phosphorique 30 % vol/vol.

- La figure 28 représente l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 25 °C avec aération de la composition A3 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 dans un bioréacteur de 2 l. Les analyses sont effectuées par
20 HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p sur la base de la matière sèche totale).

- La figure 29 représente l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 25 °C avec aération de la composition A3 incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 dans un bioréacteur de 2 l. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) *
25 temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

L'aération stimule la fermentation de sucres libres. En effet, la dégradation de sucres libres par la levure est beaucoup plus rapide comparée à la fermentation qui survient sans aération (figures 24 et 25).

- Exemple 6 : comparatif : incubation d'une composition comprenant de l'inuline et
30 du saccharose, avec *Rhodotorula dairenensis* CBS 7294 (étape b)**

Une solution d'extrait de levure est préparée comme suit : 10 g d'extrait de levure (Merck) sont dissous dans 100 ml d'eau déminéralisée. Ensuite, la solution est stérilisée (20 min, 121 °C).

10 g de la solution d'extrait de levure stérilisée sont ajoutés à 90 g de composition B6. Aucune aération supplémentaire n'est effectuée.

La composition B6, supplémentée avec de l'extrait de levure, est inoculée avec *Rhodotorula dairenensis* CBS 7294 (du centre de biodiversité fongique CBS-KNAW, Utrecht, Pays-Bas) à une concentration de 10^5 UFC/ml et incubée à 30 °C avec une vitesse d'agitation de 160 r/min.

La figure 30 représente l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 30 °C de la composition B6 incubée avec *Rhodotorula dairenensis* CBS 7294 dans une fiole de 250 ml. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p sur la base de la matière sèche totale).

La figure 31 représente l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 30 °C de la composition B6 incubée avec *Rhodotorula dairenensis* CBS 7294 dans une fiole de 250 ml. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

À partir des figures 30 à 31 et 17 à 18, il apparaît clairement que *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 dégrade tous les sucres libres testés tandis que *Rhodotorula dairenensis* CBS 7294 génère plus de sucres libres. *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 a clairement une spécificité plus élevée pour les sucres libres par rapport à l'inuline.

Exemple 7 : comparatif : incubation d'une composition comprenant de l'inuline et du saccharose, avec *Aureobasidium Pullulans* CBS 621.80 – (étape b)

Une solution d'extrait de levure est préparée comme suit : 10 g d'extrait de levure (Merck) sont dissous dans 100 ml d'eau déminéralisée. Ensuite, la solution est stérilisée (20 min, 121 °C).

10 g de la solution d'extrait de levure stérilisée sont ajoutés à 90 g de composition B7. Aucune aération supplémentaire n'est effectuée.

La composition B7, supplémentée avec de l'extrait de levure, est inoculée avec *Aureobasidium Pullulans* CBS621.80 (obtenu auprès du centre de biodiversité fongique CBS-KNAW, Utrecht, Pays-Bas) à une densité optique (DO à 660 nm) de 0,1 et incubée à 30 °C avec une vitesse d'agitation de 160 r/min.

La figure 32 représente l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 30 °C de la composition B7 incubée avec *Aureobasidium Pullulans* CBS 621.80. Les

analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p sur la base de la matière sèche totale).

La figure 33 représente l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 30 °C de la composition B7 incubée avec *Aureobasidium Pullulans* CBS 621.80. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

À partir des figures 32 à 33 et 17 à 18, il apparaît clairement que *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* (MUCL 55125) dégrade tous les sucres libres testés tandis que *Aureobasidium Pullulans* CBS 621.80 génère plus de sucres libres. *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 a clairement une spécificité plus élevée pour les sucres libres comparés à l'inuline.

Exemple 8 : incubation d'une composition comprenant de l'inuline et du saccharose, avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 – (étape b)

40 kg de composition F dans un fût de 60 l sont inoculés à une concentration de 10^5 UFC/ml à 30 °C sans agitation avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125.

Aucune aération supplémentaire n'est effectuée. Le pH n'est pas régulé.

La figure 34 représente l'évolution de la concentration de sucres libres au cours du temps à 30 °C de la composition F incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 dans un fût de 60 l. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (résultats exprimés en % p/p sur la base de la matière sèche totale).

La figure 35 représente l'évolution de l'aire de pic de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 et GF6 au cours du temps à 30 °C de la composition F incubée avec *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 dans un fût de 60 l. Les analyses sont effectuées par HPAEC-PAD (l'aire étant exprimée en nanocoulombs (nC) * temps de rétention (min) – normalisée en fonction de la dilution de la composition).

REVENDECATIONS

1. Procédé pour traiter une composition comprenant du fructose et du saccharose, comprenant les étapes de (a) fourniture d'une composition comprenant du fructose et du saccharose, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprend au moins 30 % en poids (% p/p) de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition ; et (b) incubation de ladite composition comprenant du fructose et du saccharose avec au moins une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* ; jusqu'à ce qu'une réduction d'au moins 10 % du poids initial de saccharose dans ladite composition soit obtenue.
2. Procédé selon la revendication 1, dans lequel ladite au moins une levure est choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces bayanus*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, et *Saccharomyces boulardii*.
3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprend en outre un ou plusieurs sucres libres, de préférence dans lequel lesdits sucres libres sont choisis dans le groupe comprenant du glucose et du fructose.
4. Procédé selon l'une quelconque de revendications 1 à 3, dans lequel ledit fructose a un degré de polymérisation moyen en nombre d'au moins 3.
5. Procédé selon l'une quelconque de revendications 1 à 4, dans lequel ledit fructose est d'origine végétale, de préférence provenant de chicorée.
6. Procédé selon l'une quelconque de revendications 1 à 5, dans lequel ledit fructose est l'inuline, de préférence l'inuline de chicorée.
7. Procédé selon l'une quelconque de revendications 1 à 6, dans lequel ladite levure est *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* déposé dans les Collections coordonnées belges de micro-organismes (BCCM) avec le numéro d'ordre MUCL 55125.
8. Procédé selon l'une quelconque de revendications 1 à 7, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est incubée avec ladite levure à une température d'au moins le point de congélation de la composition.
9. Procédé selon l'une quelconque de revendications 1 à 8, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est incubée avec ladite levure à un pH d'au moins 2,5.

10. Procédé selon l'une quelconque de revendications 1 à 9, dans lequel ladite composition comprenant du fructose et du saccharose comprend au moins 5 % en poids et au plus 80 % en poids de matière sèche sur la base du poids total de la composition.
- 5 11. Procédé selon l'une quelconque de revendications 3 à 10, dans lequel le rapport en poids de sucres libres comprenant le saccharose au fructose dans ladite composition comprenant du fructose et du saccharose au début de l'incubation est d'au moins 1:100.
- 10 12. Procédé selon l'une quelconque de revendications 1 à 11, dans lequel, à la fin de ladite étape d'incubation, le poids de fructose de ladite composition comprenant du fructose et du saccharose est d'au plus 20 % inférieur au poids initial de fructose au début de ladite incubation, de préférence au plus 10 %, de manière préférée entre toutes au plus 5 %.
- 15 13. Composition comprenant du fructose, du saccharose et au moins une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis*, et *Saccharomyces boulardii*, ladite composition comprenant au moins 30 % en poids (% p/p) de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition.
- 20 14. Levure déposée dans les Collections coordonnées belges de micro-organismes (BCCM) avec le numéro d'ordre MUCL 55125.
15. Utilisation d'une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* pour réduire la quantité de saccharose dans une composition comprenant du saccharose et au moins 30 % en poids (% p/p) de fructose sur la base du poids total de matière sèche de ladite composition.

FIGURES

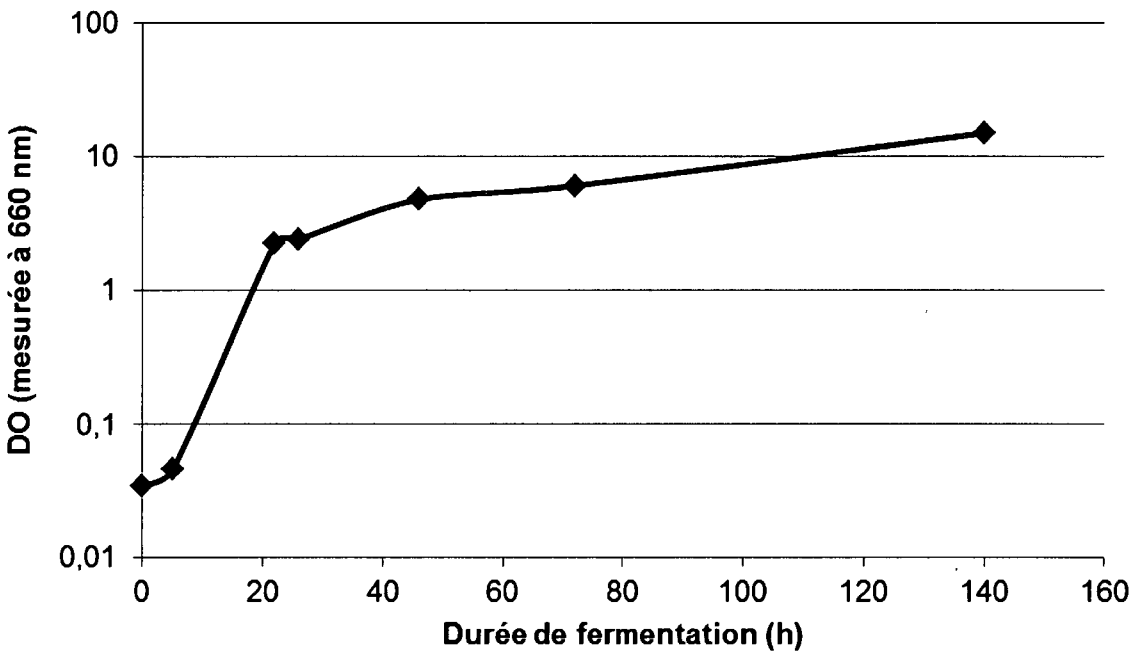


FIG. 1

5

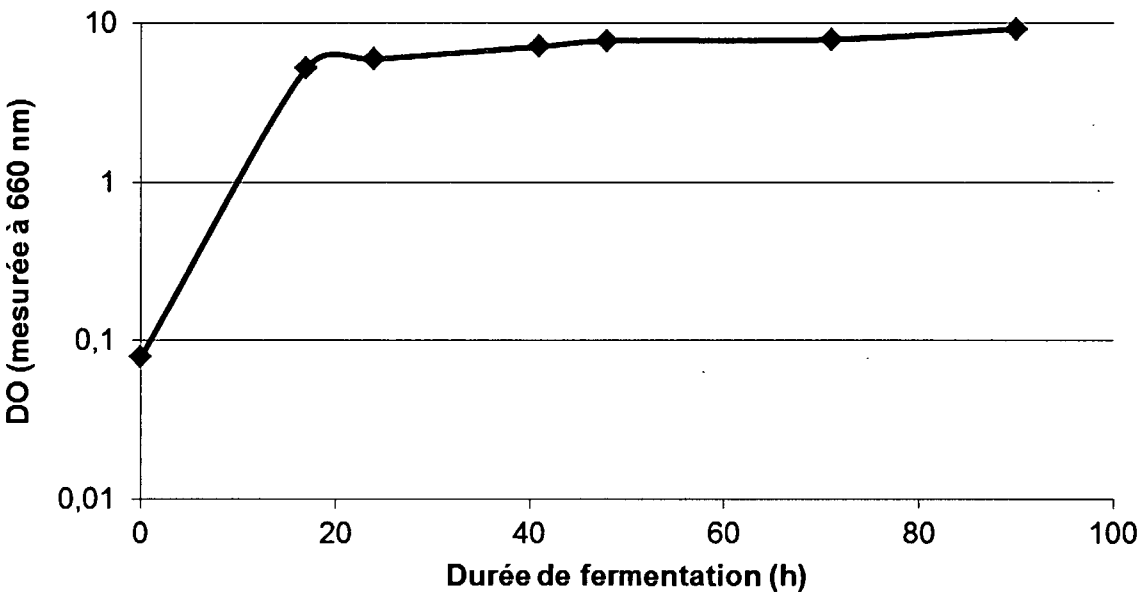


FIG. 2

10

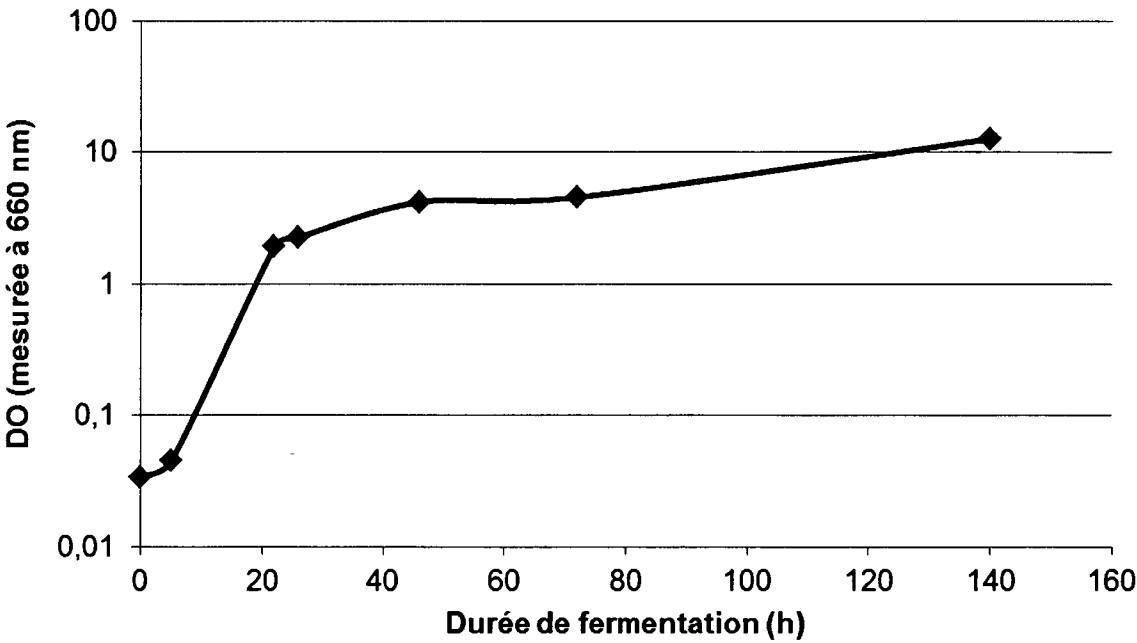


FIG. 3

5

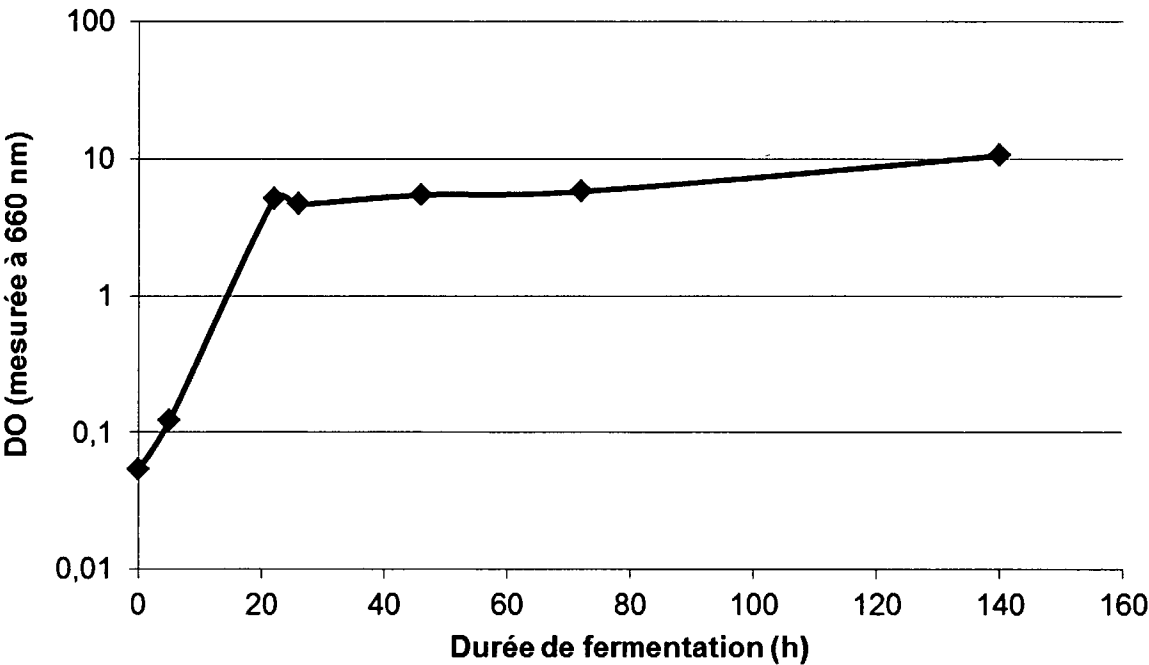
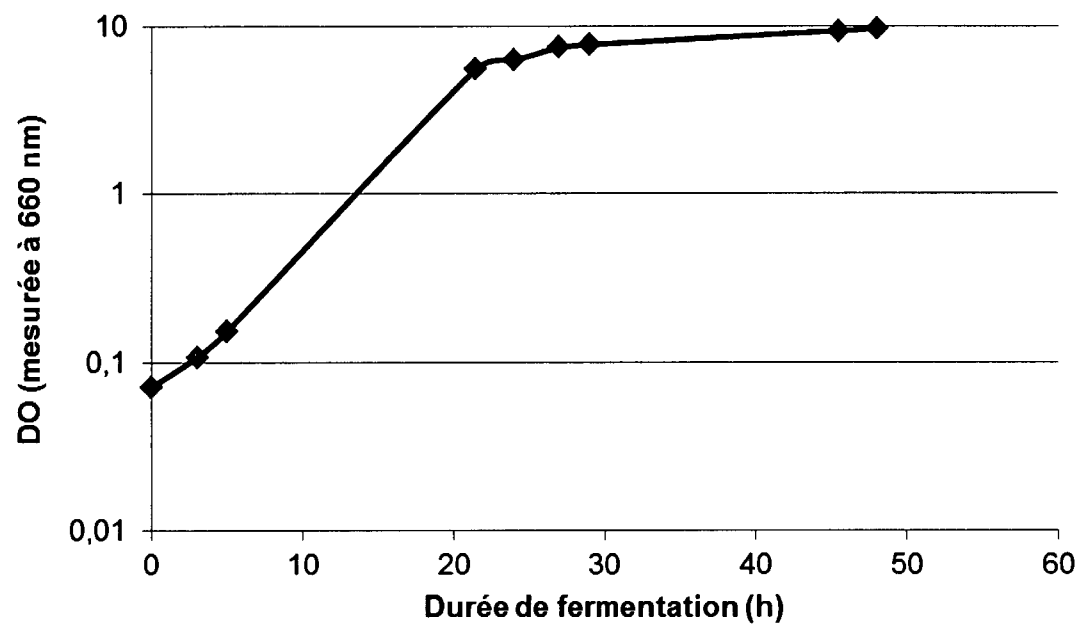


FIG. 4

A



B

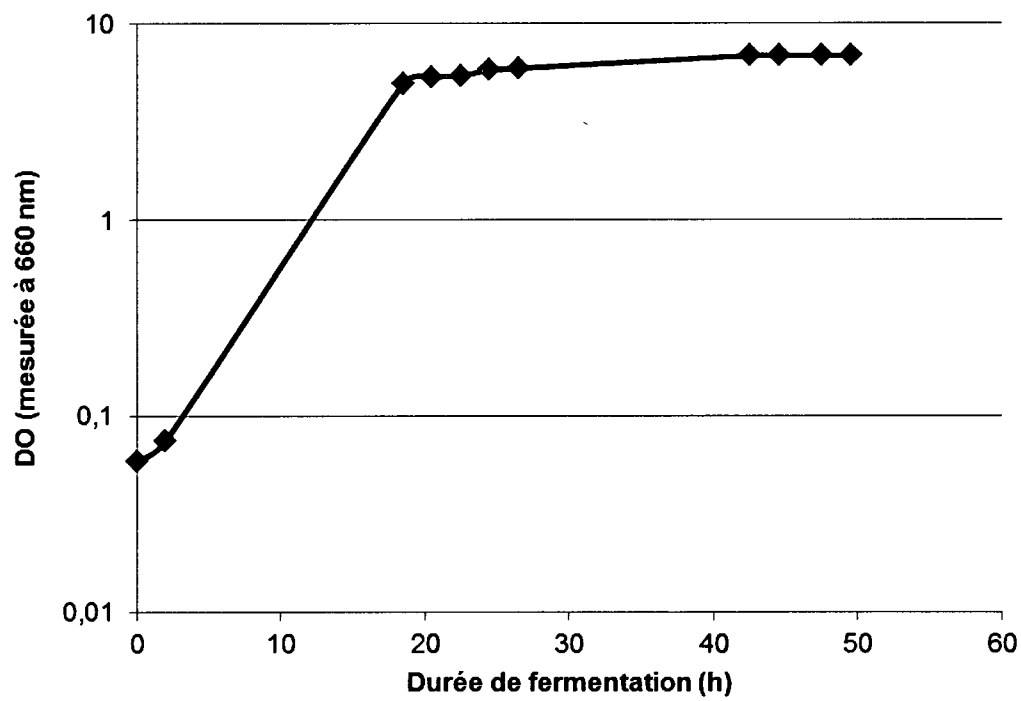


FIG. 5

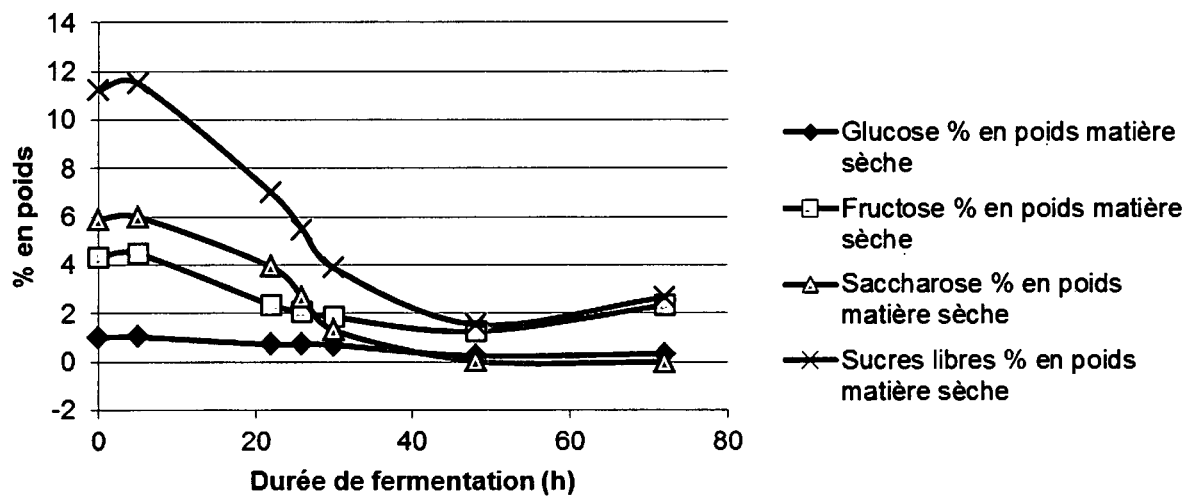


FIG. 6

5

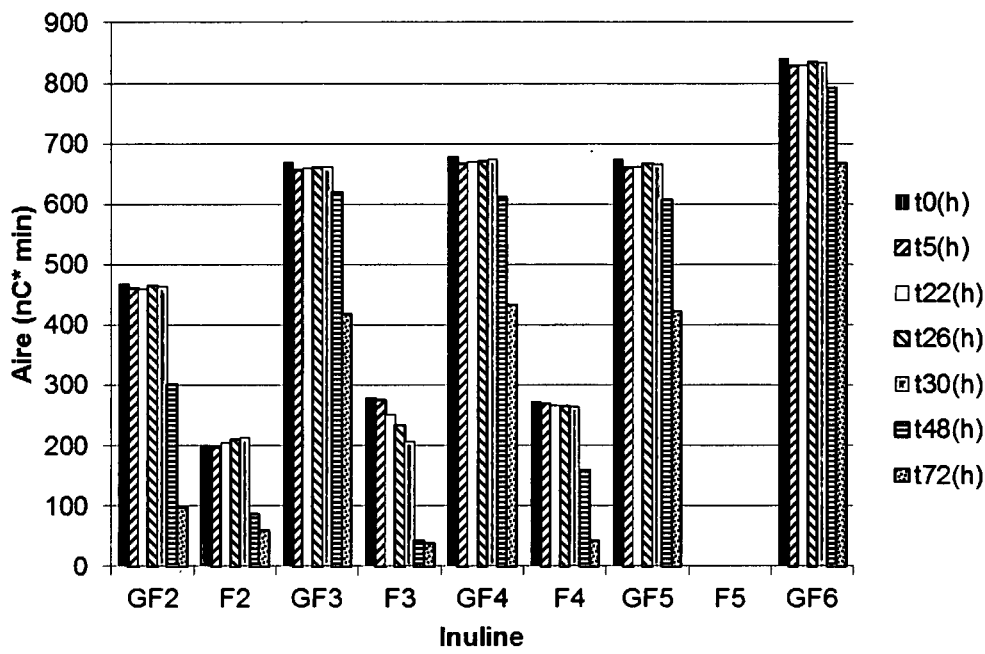


FIG. 7

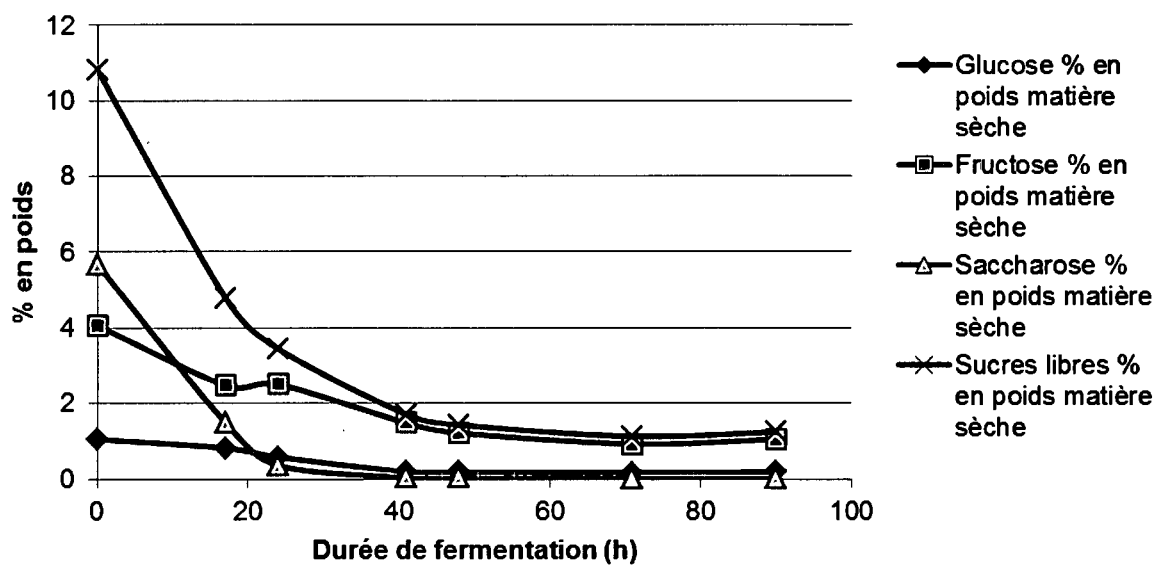


FIG. 8

5

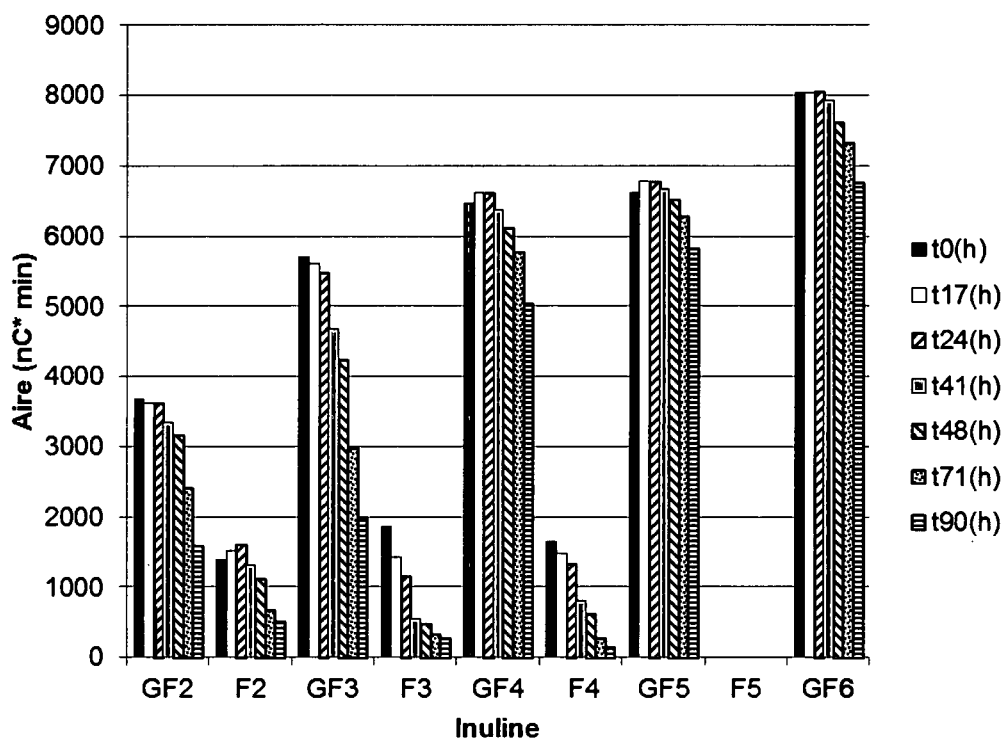


FIG. 9

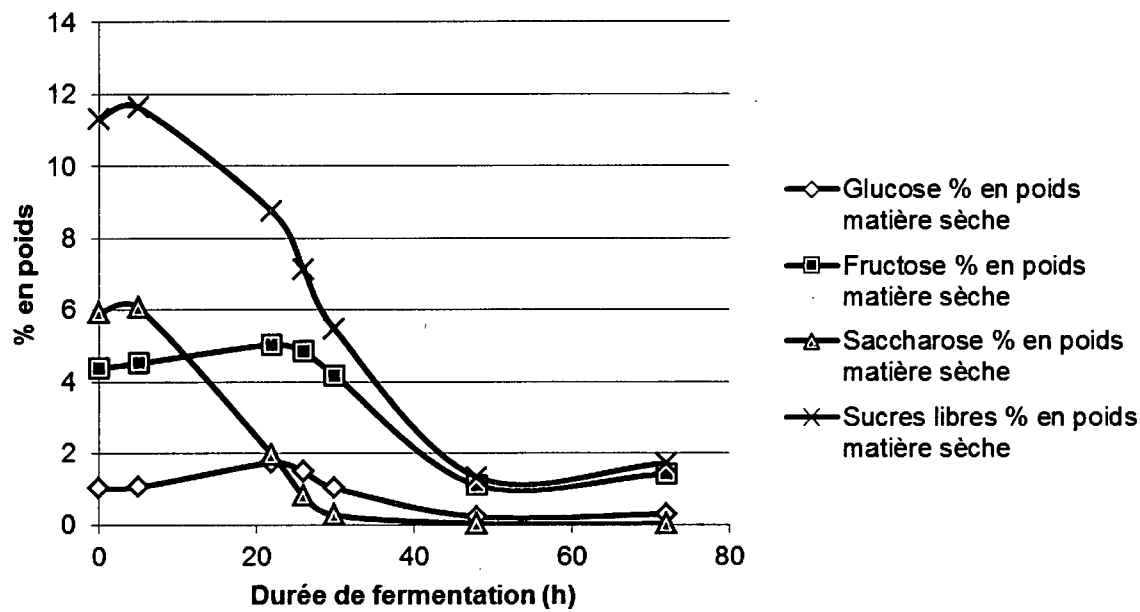


FIG. 10

5

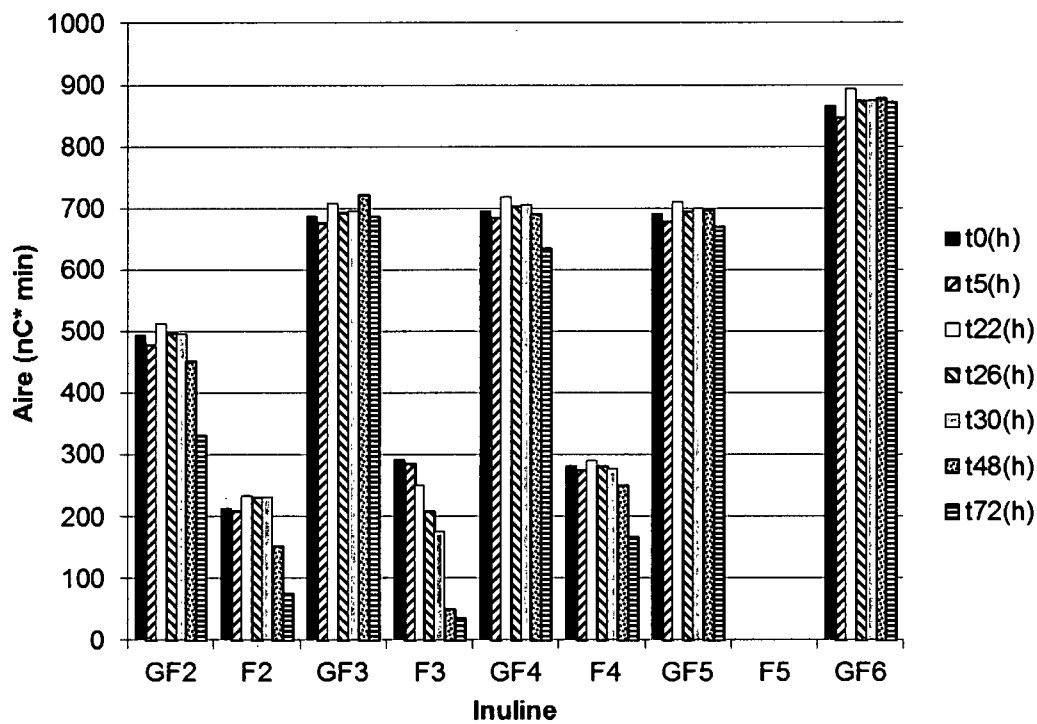


FIG. 11

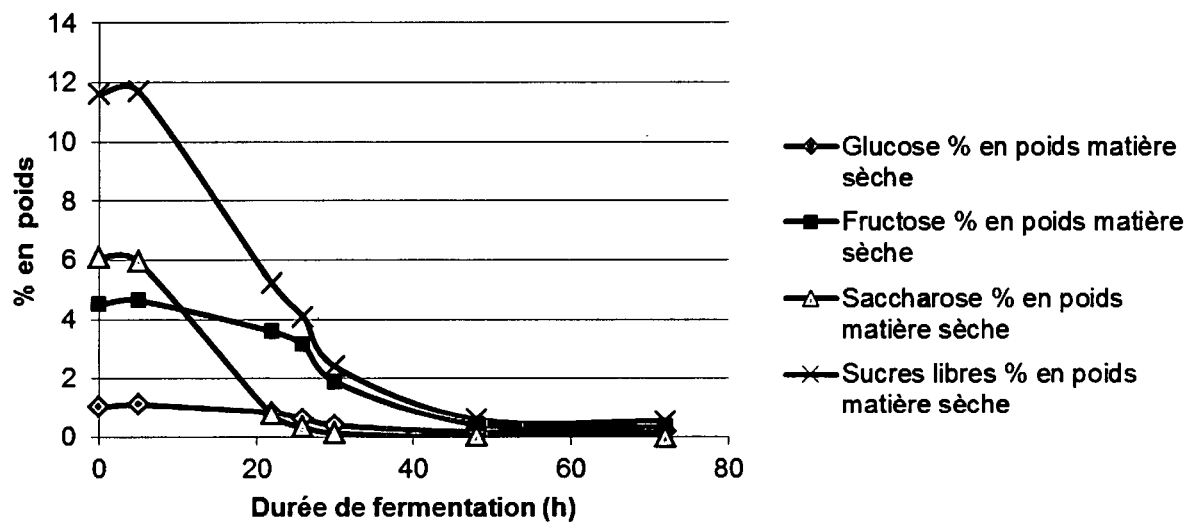


FIG. 12

5

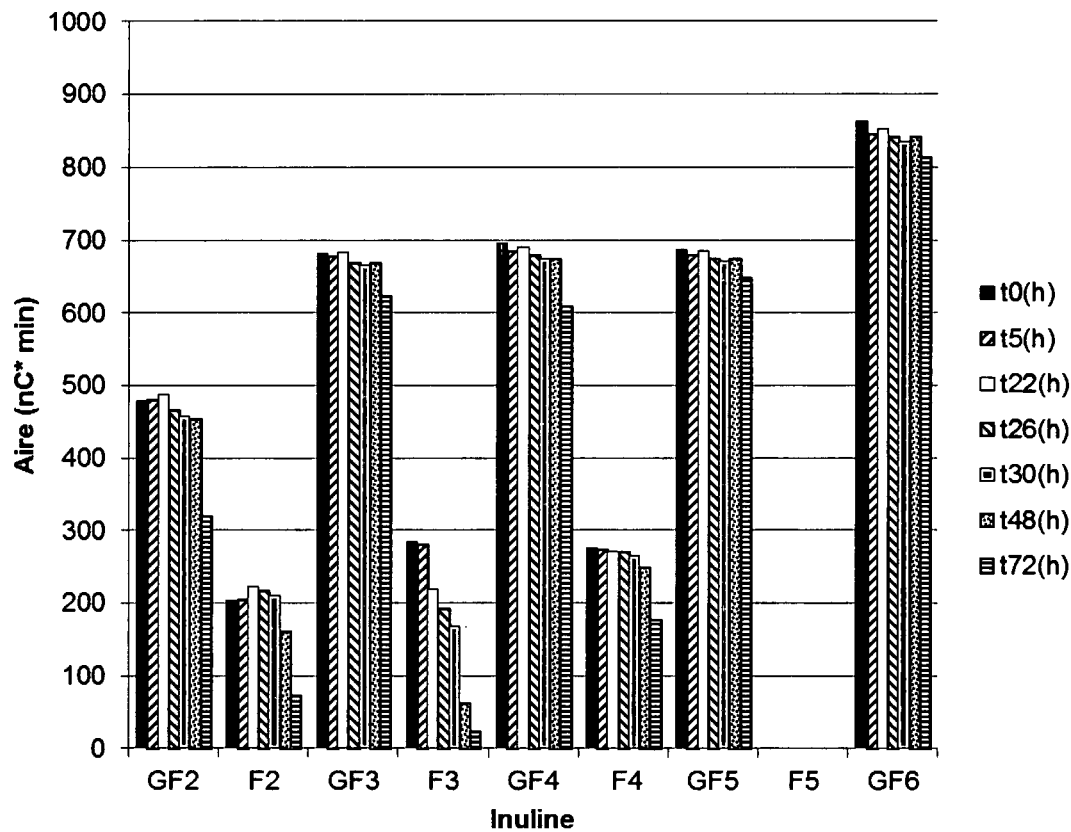


FIG. 13

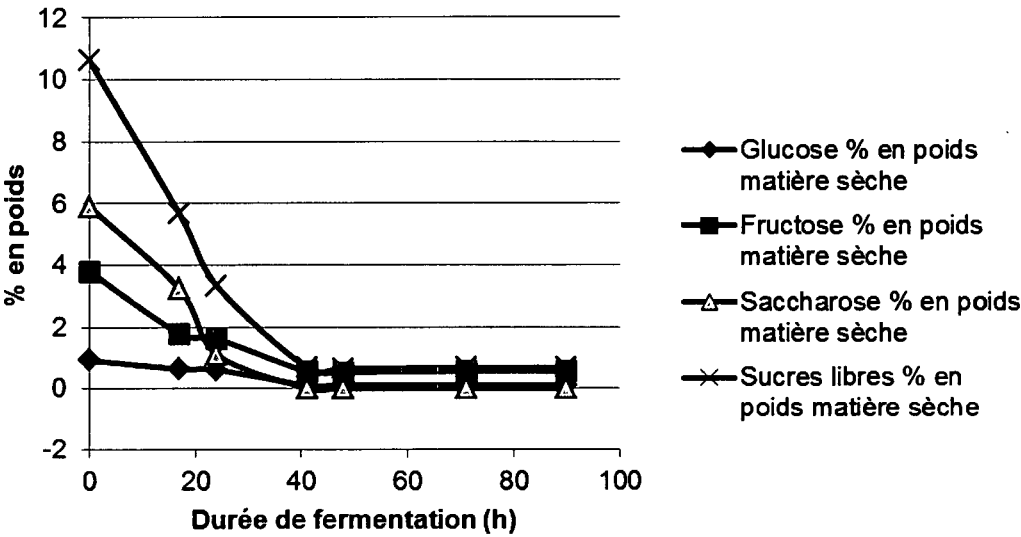


FIG. 14

5

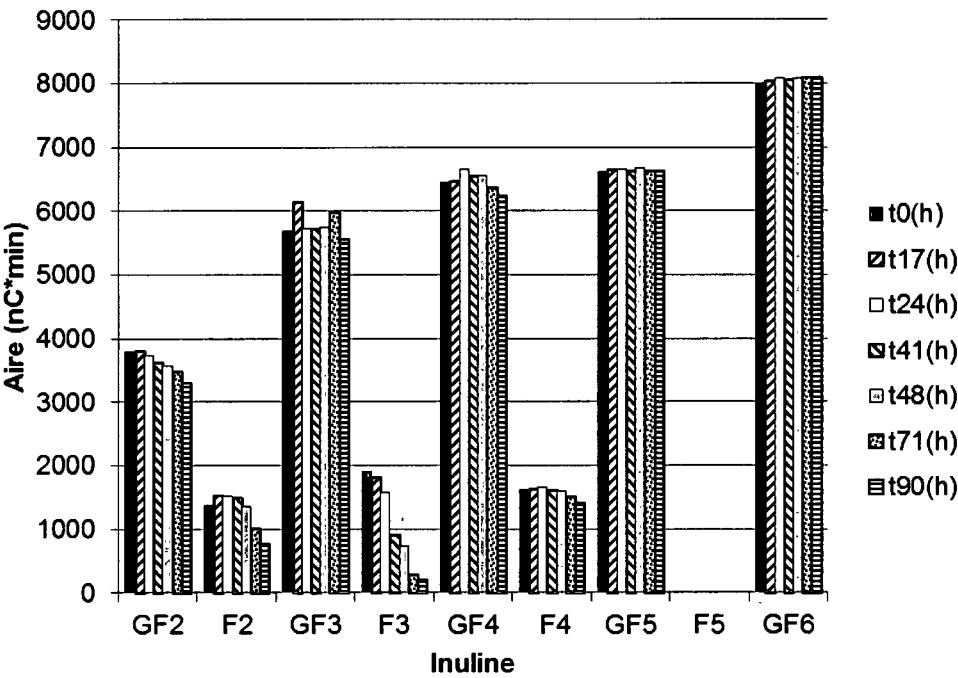


FIG. 15

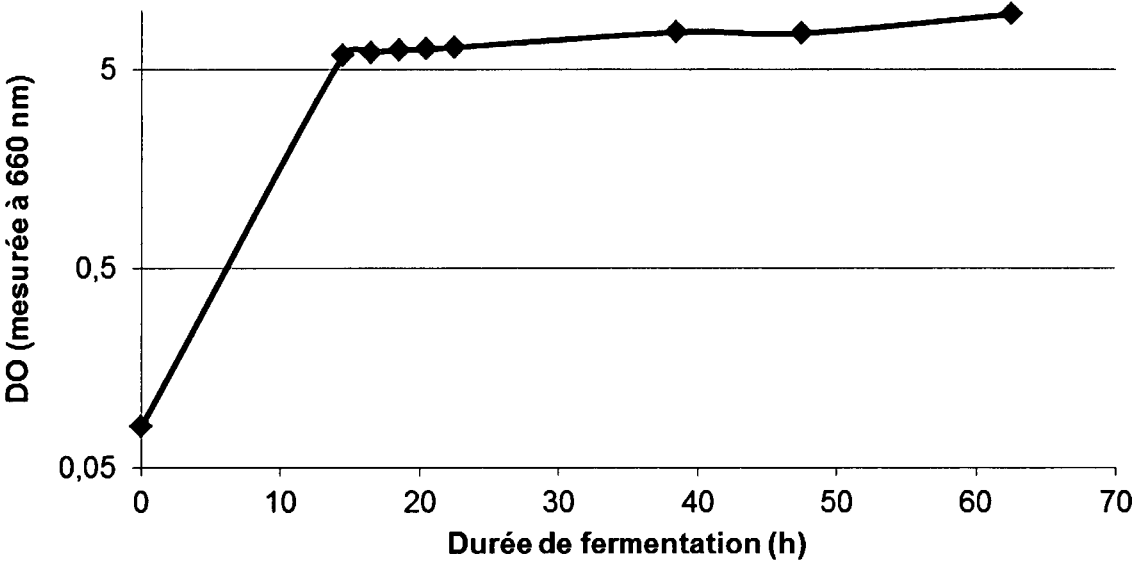


FIG. 16

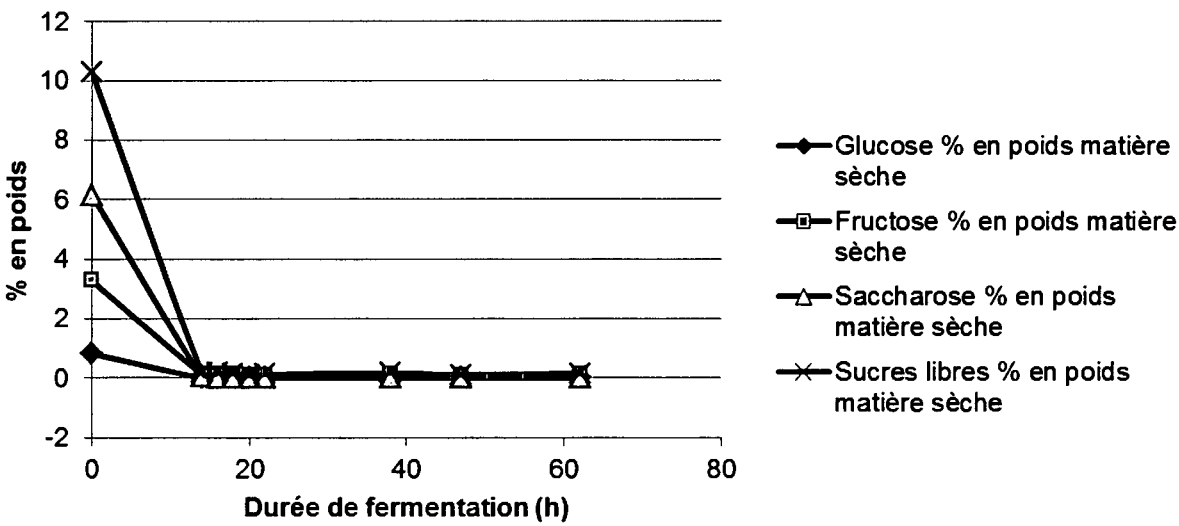


FIG. 17

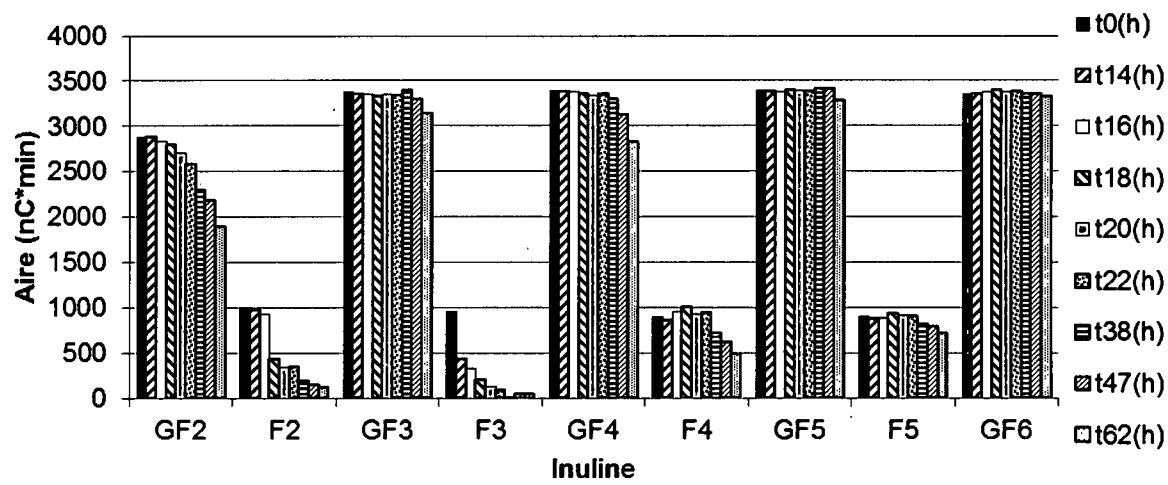


FIG. 18

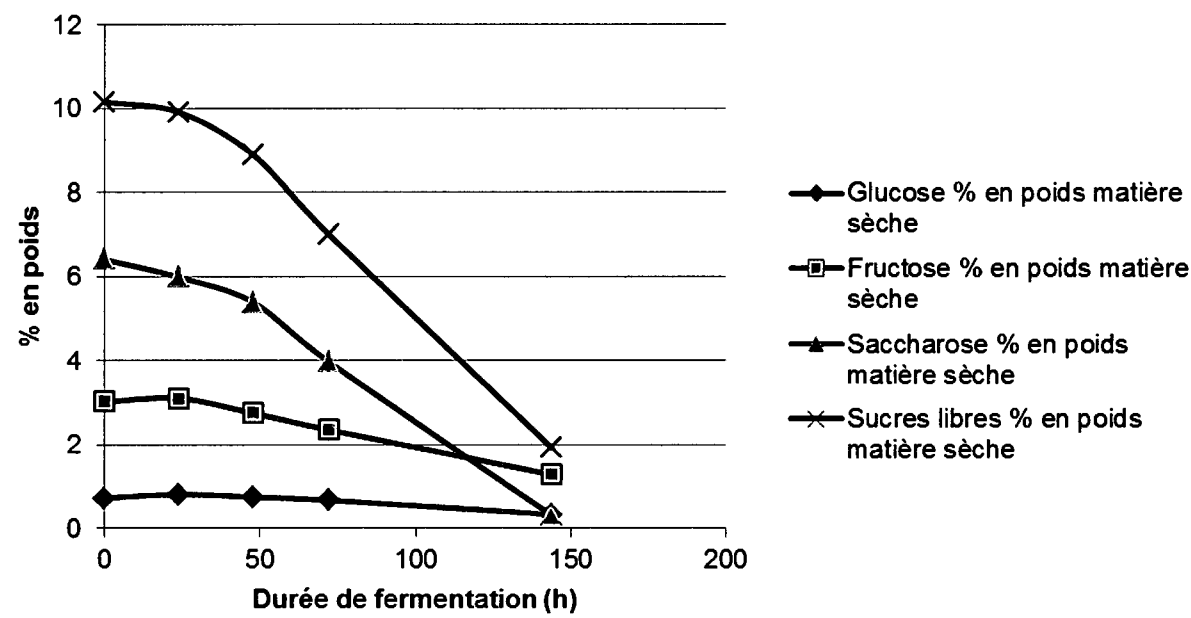


FIG. 19

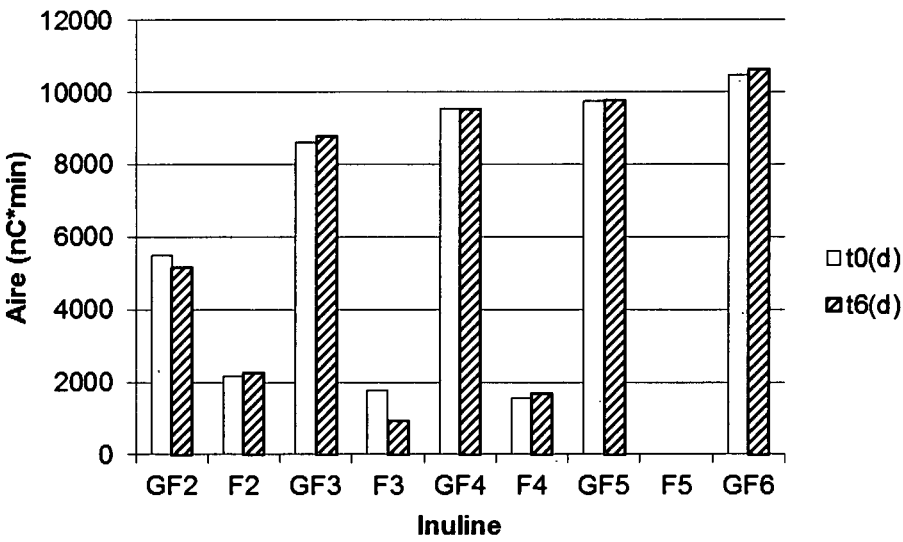


FIG. 20

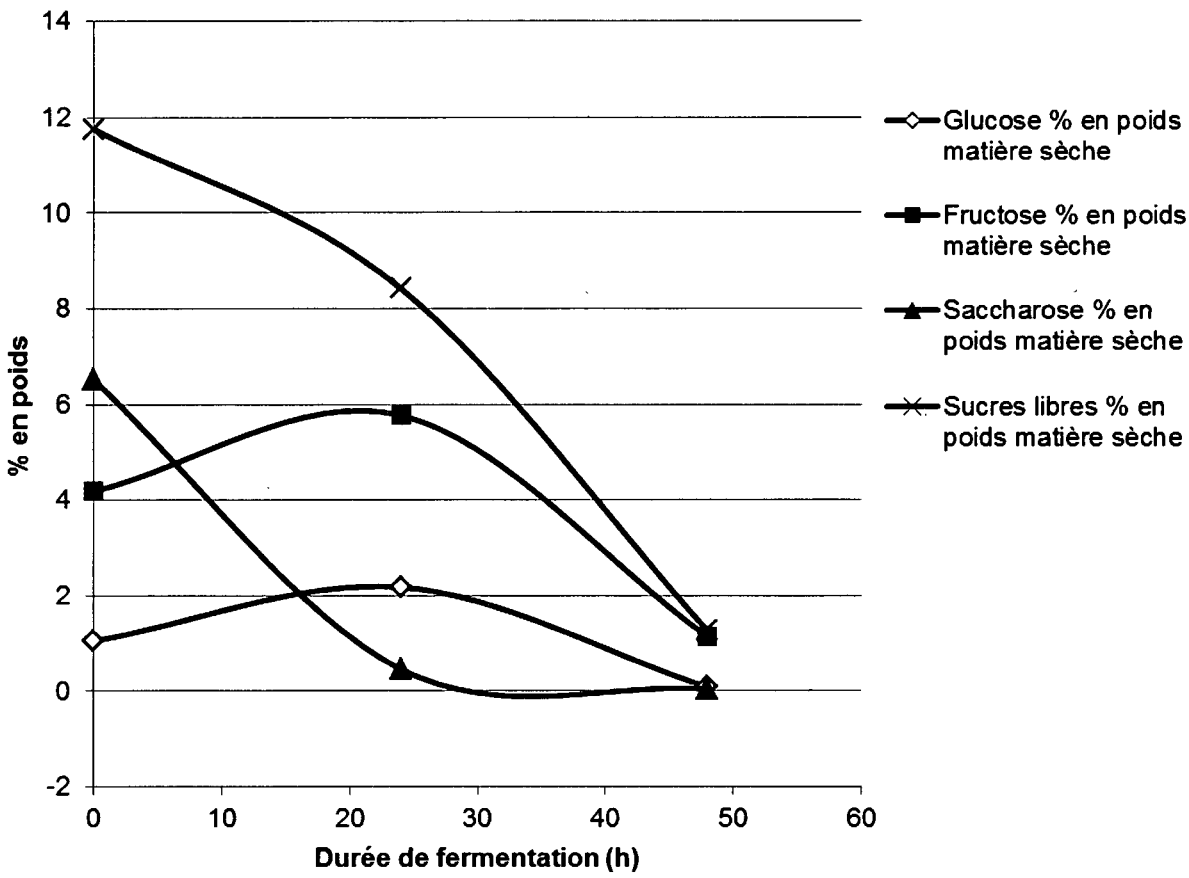


FIG. 21

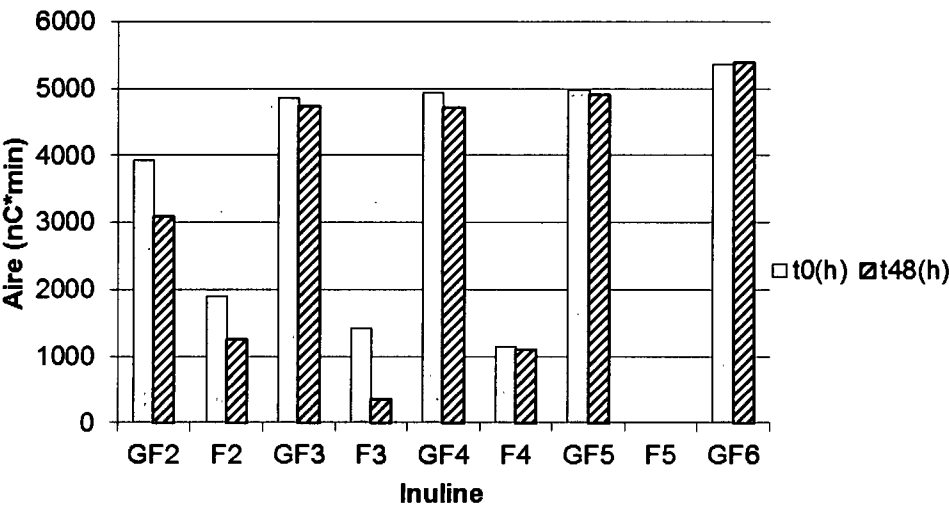


FIG. 22

5

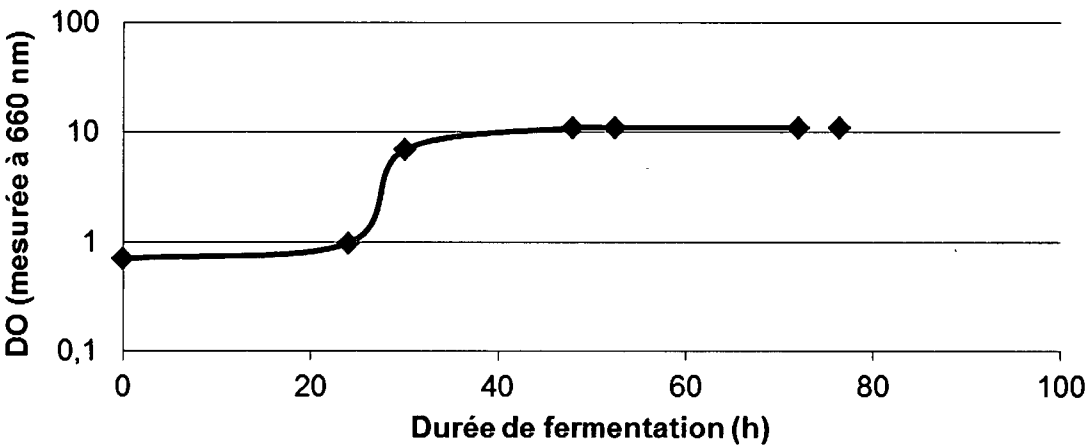


FIG. 23

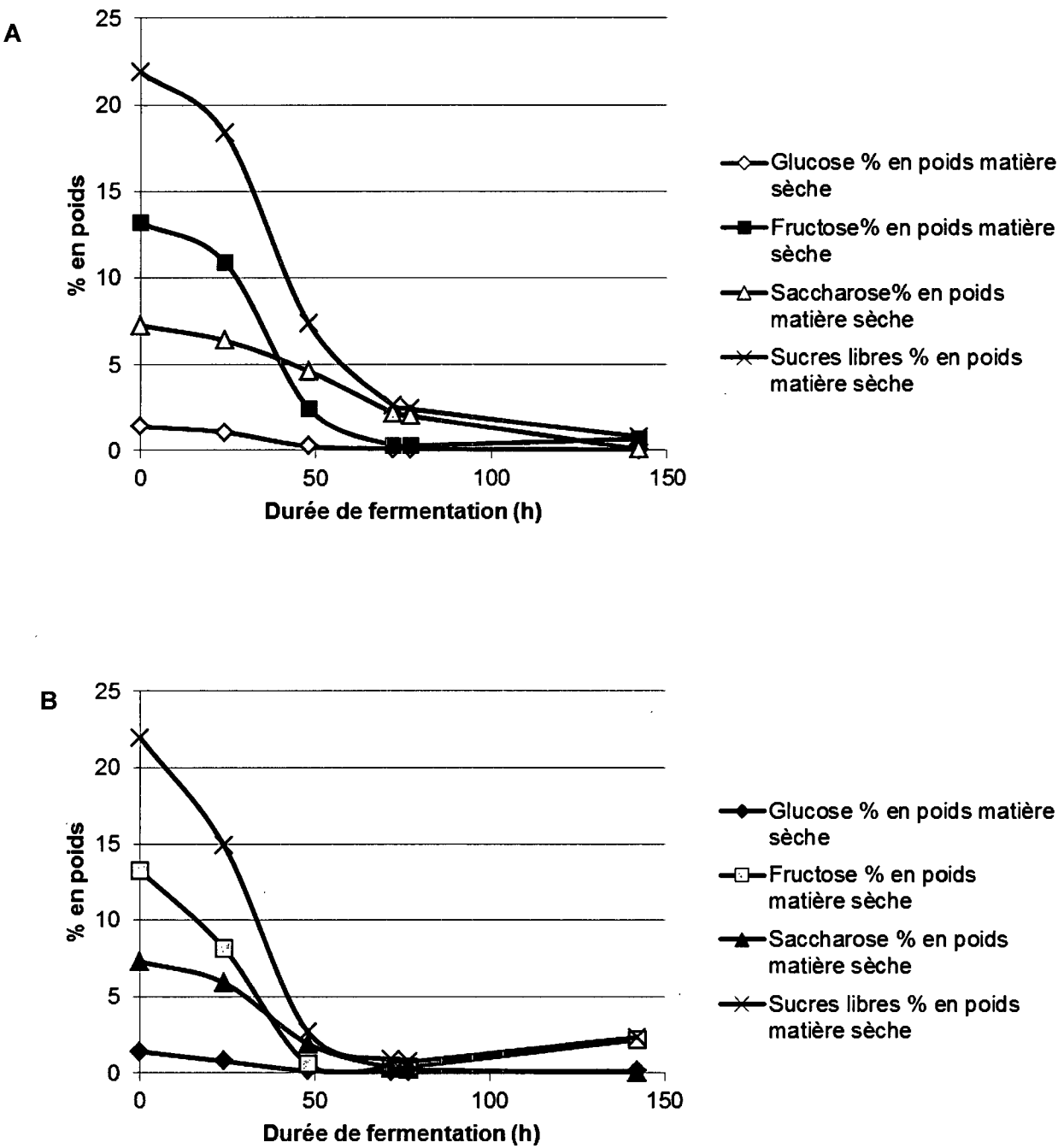


FIG. 24

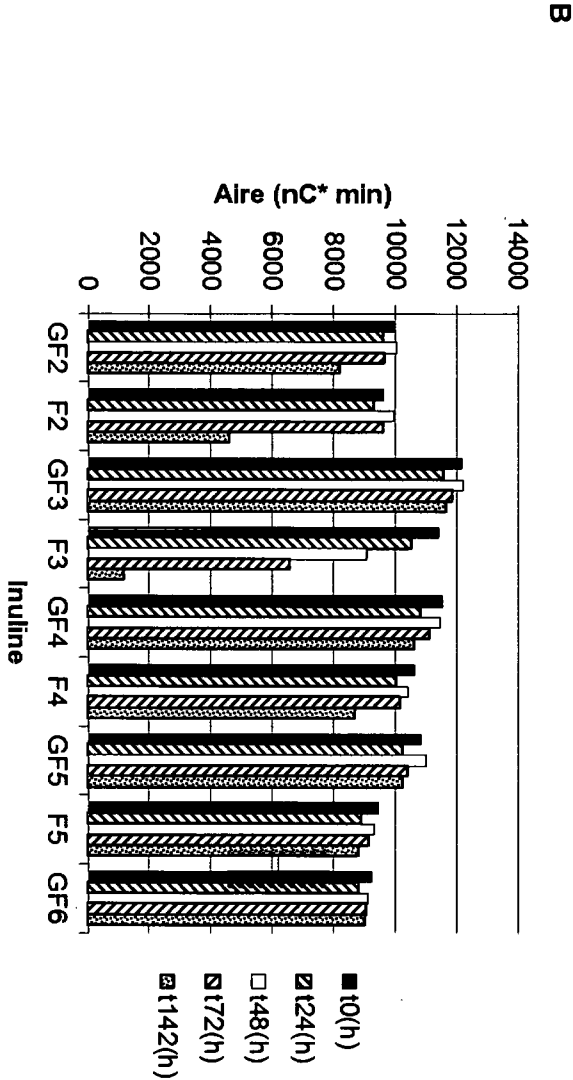
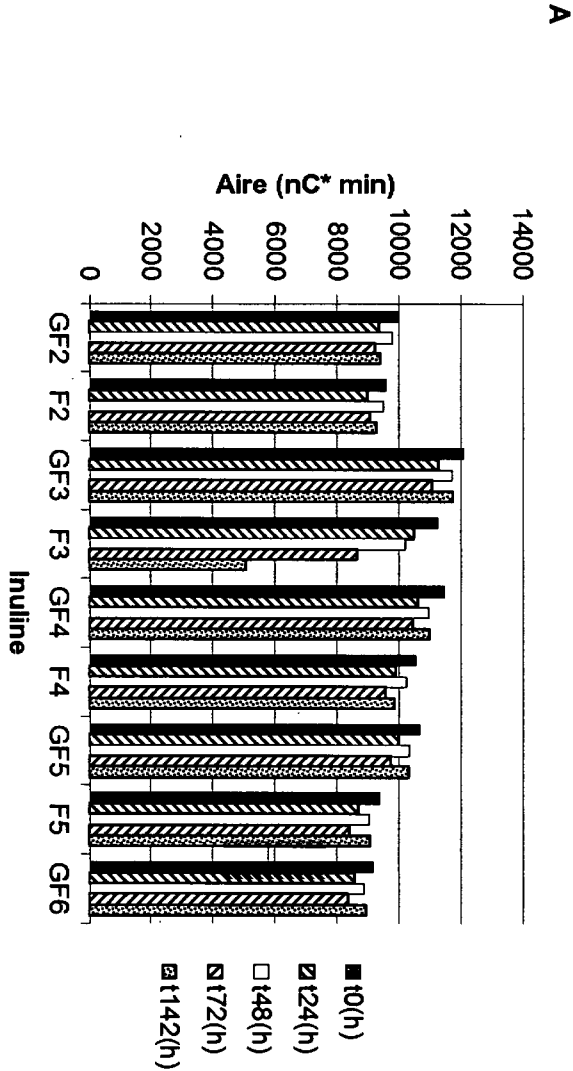


FIG. 25

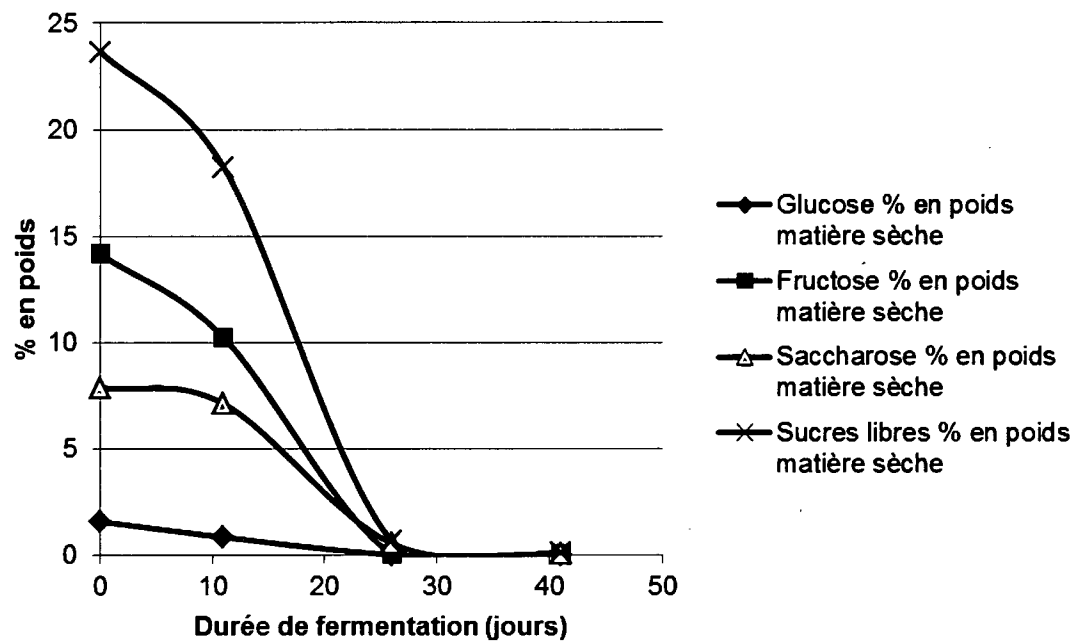


FIG. 26

5

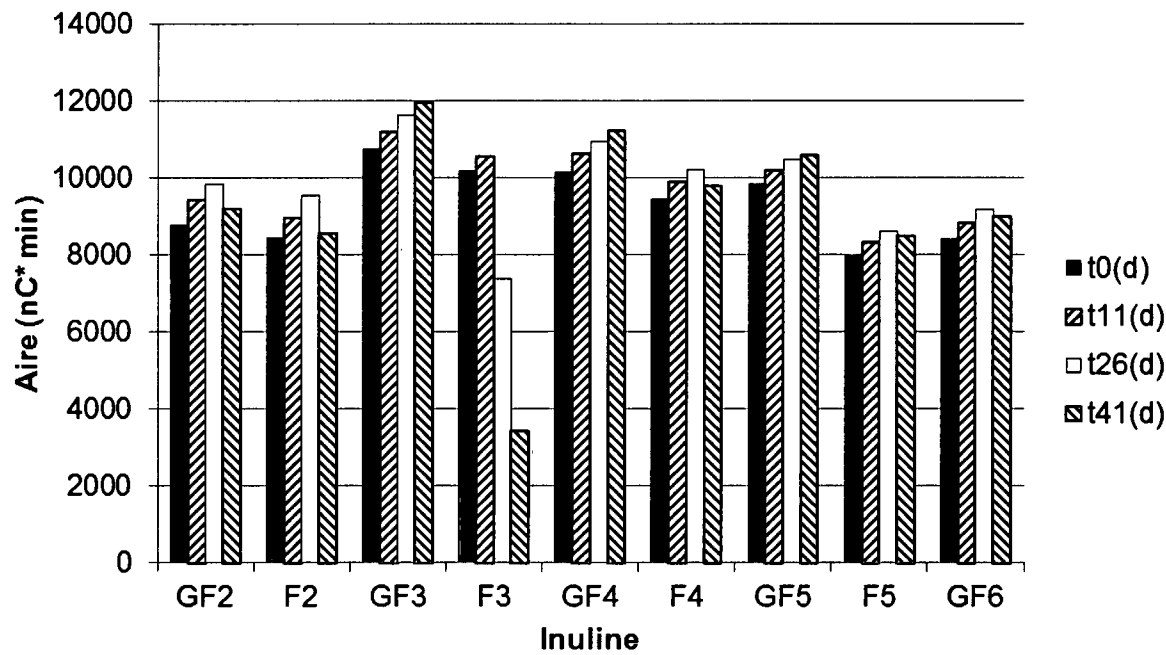


FIG. 27

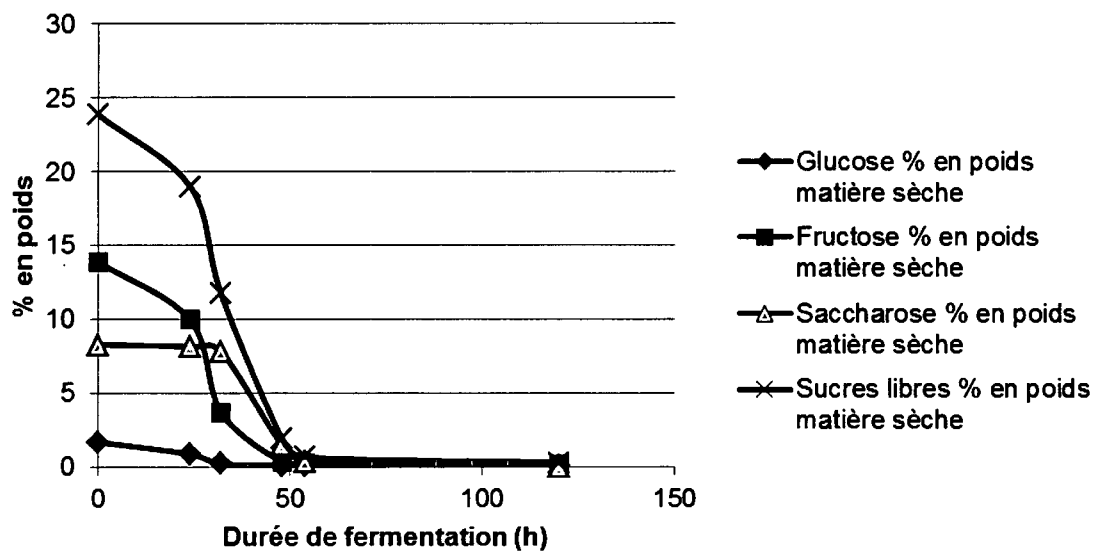


FIG. 28

5

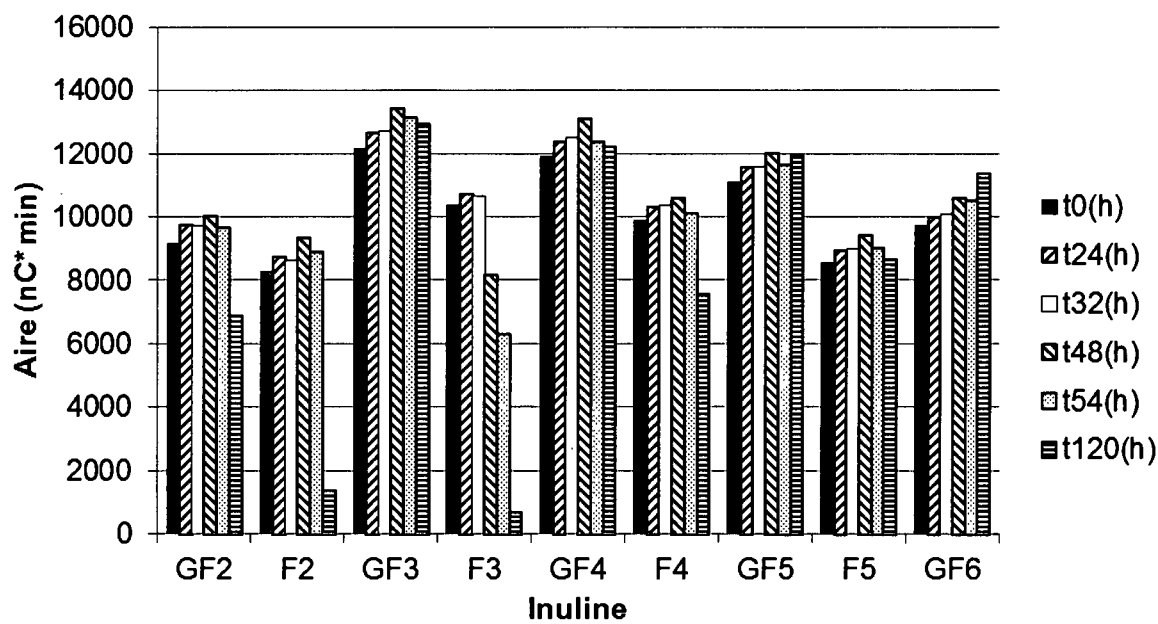


FIG. 29

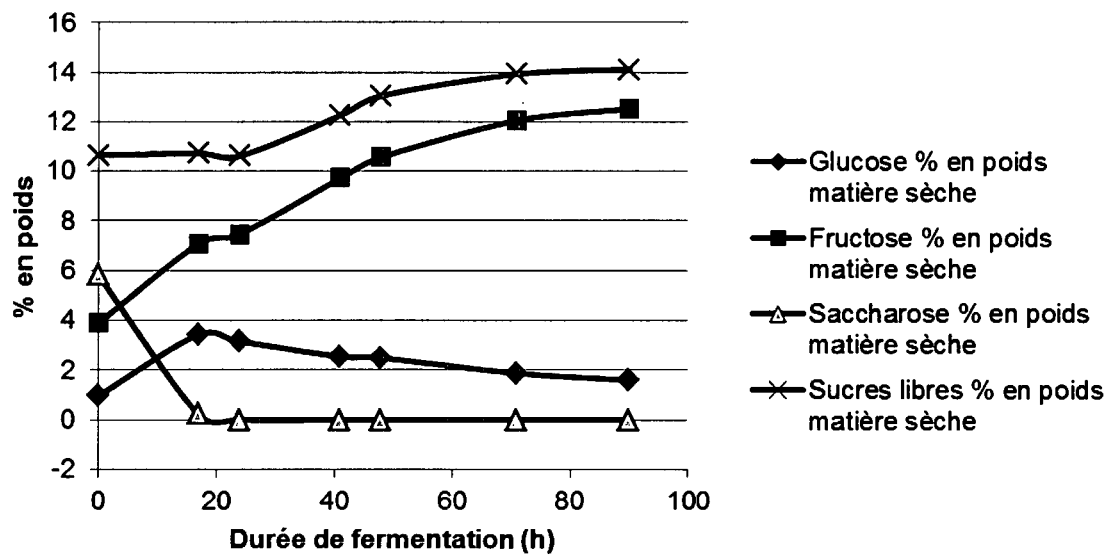


FIG. 30

5

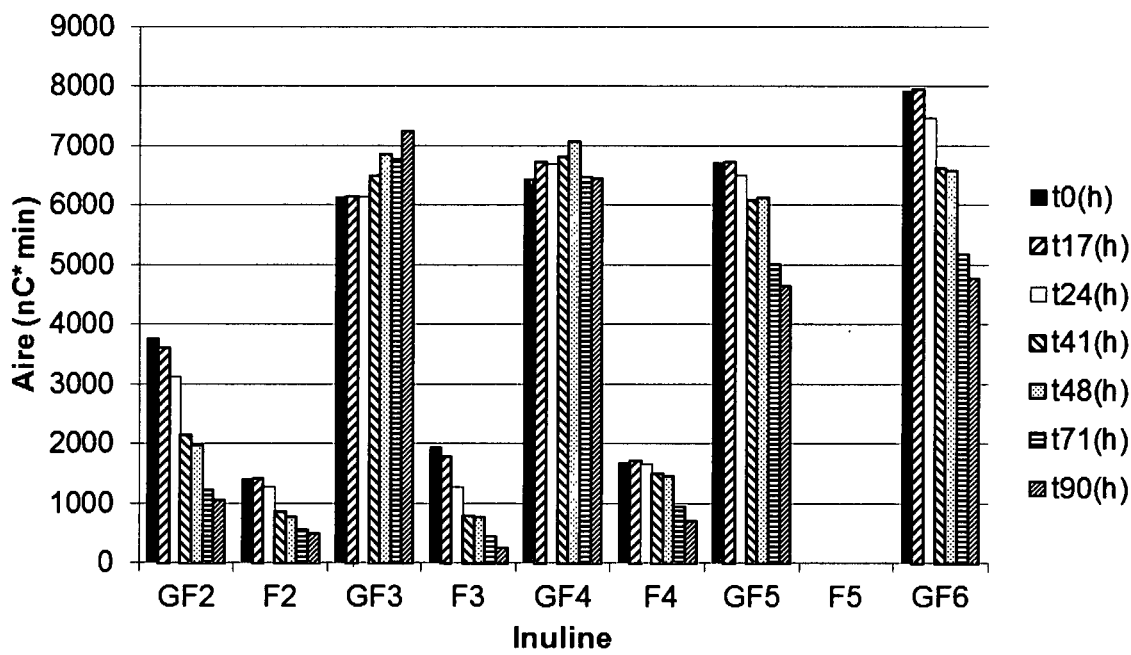


FIG. 31

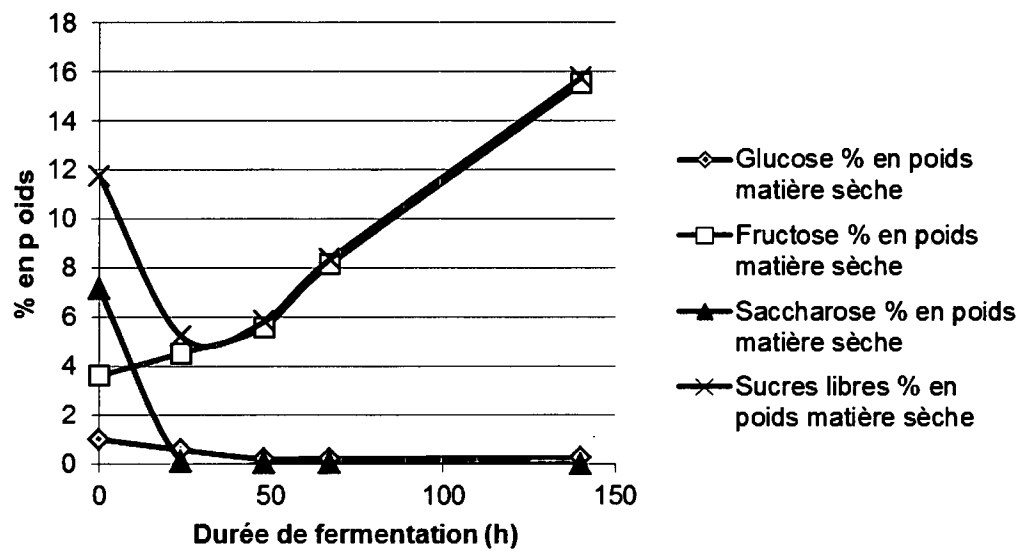


FIG. 32

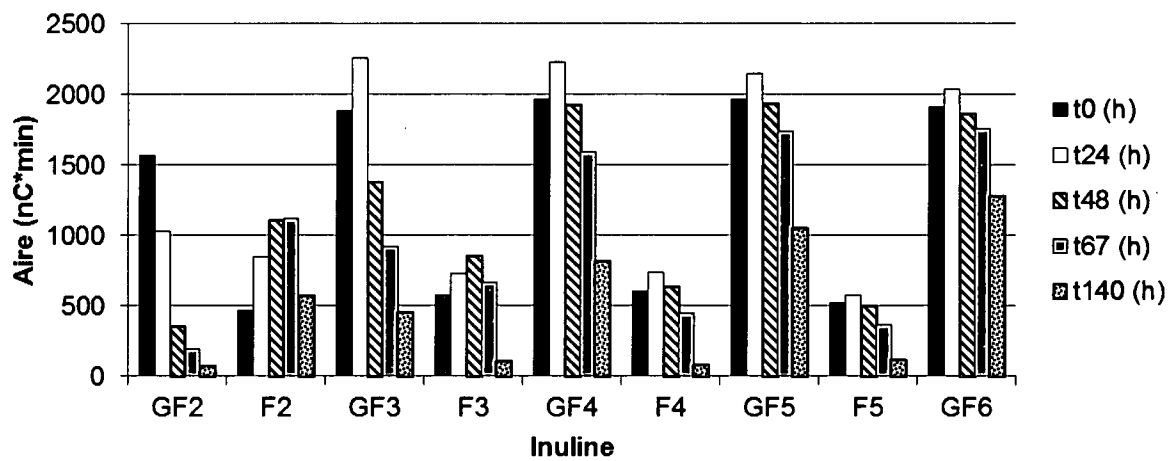


FIG. 33

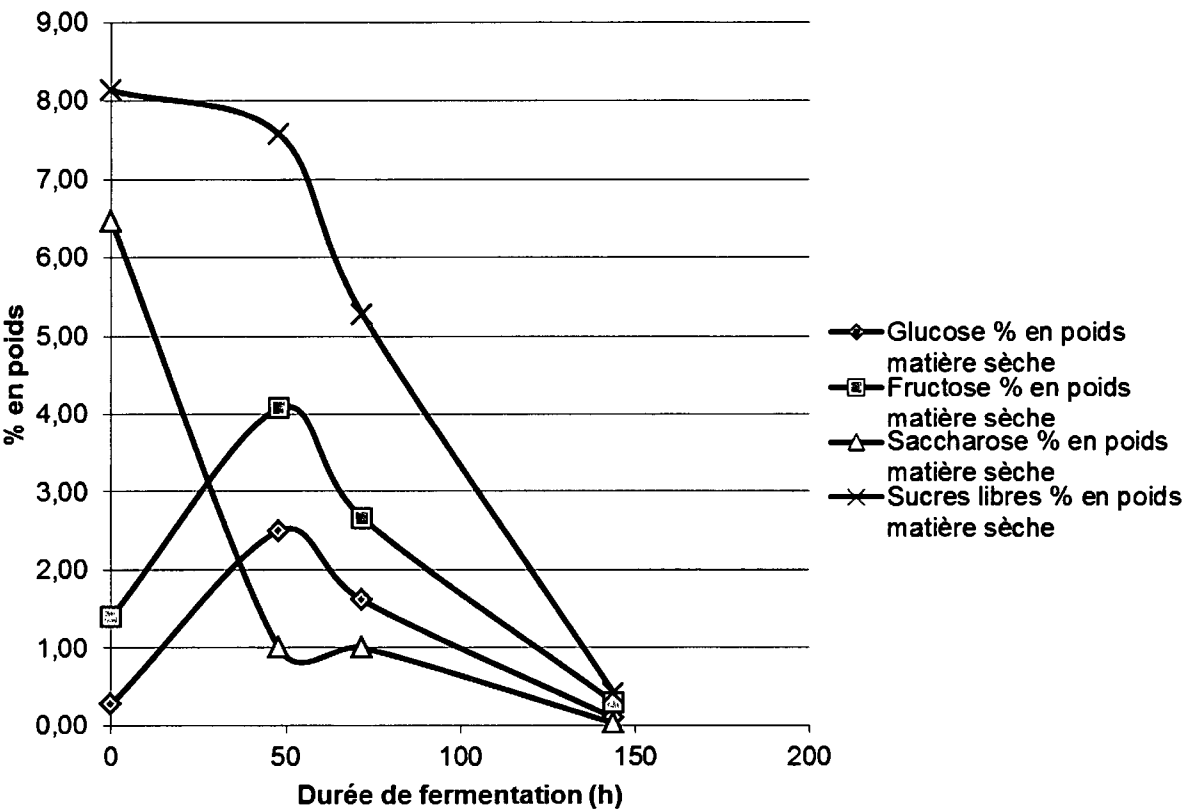


FIG. 34

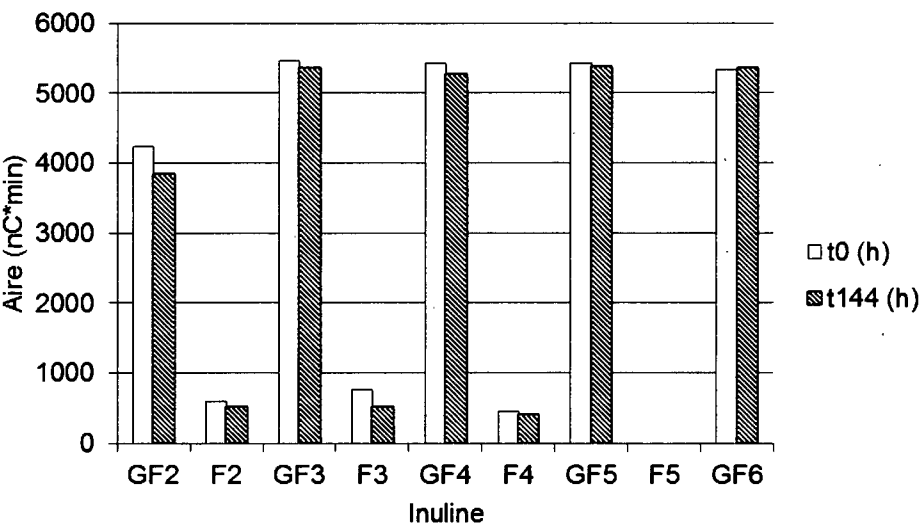


FIG. 35

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

RAPPORT DE RECHERCHE DE TYPE INTERNATIONAL ETABLI EN VERTU DE L'ARTICLE 21 § 9 DE LA LOI BELGE SUR LES BREVETS D'INVENTION DU 28 MARS 1984

IDENTIFICATION DE LA DEMANDE INTERNATIONALE	REFERENCE DU DEPOSANT OU DU MANDATAIRE CGW-009-BE	
Demande nationale belge n° 201400598	Date du dépôt 04-08-2014	
	Date de priorité revendiquée 24-06-2014	
Déposant (Nom) COSUCRA GROUPE WARCOING S.A.		
Date de la requête d'une recherche de type international 06-12-2014	Numéro attribué par l'administration chargée de la recherche internationale à la requête d'une recherche de type international SN 63149	
I. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE (en cas de plusieurs symboles de la classification, les indiquer tous) Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB A23L1/308 A23L1/015 C08B37/00		
II. DOMAINES RECHERCHES		
Documentation minimale consultée		
Système de classification	Symboles de la classification	
IPC 8	A23L C08B	
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents font partie des domaines consultés		
III. ☐ IT A ETE ESTIME QUE CERTAINES REVENDICATIONS NE POUVAIENT FAIRE L'OBJET D'UNE RECHERCHE (Observations sur la feuille supplémentaire)		
IV. ☐ ABSENCE D'UNITE DE L'INVENTION ET/OU CONSTATATION RELATIVE A L'ETENDUE DE LA RECHERCHE (Observations sur la feuille supplémentaire)		

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. A23L1/308 A23L1/015 C08B37/00 ADD.		
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) A23L C08B		
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) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	YOUN S-H ET AL: "Specificity of yeast (Saccharomyces cerevisiae) in removing carbohydrates by fermentation", CARBOHYDRATE RESEARCH, PERGAMON, GB, vol. 338, no. 10, 1 mai 2003 (2003-05-01), pages 1127-1132, XP004421303, ISSN: 0008-6215, DOI: 10.1016/S0008-6215(03)00097-1 Introduction; Page 1132 last paragraph; * abrégé *	1-6, 8-13,15
☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents ☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* 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 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, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt 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 de type international a été effectivement achevée 24 juin 2015		Date d'expédition du rapport de recherche de type international
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, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Picout, David

C (suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	R J ROUWENHORST ET AL: "Localization of inulinase and invertase in Kluyveromyces species", APPL. ENVIRON. MICROBIOL, vol. 56, no. 11, 1 janvier 1990 (1990-01-01), pages 3329-3336, XP055141764,	15
Y	* abrégé; figures 1,3; tableau 1 *	1-6,8-13
Y	WO 2006/108697 A1 (BAYER CROPS SCIENCE GMBH [DE]; HELLWEGE ELKE [DE]; PEETERS ROGER [NL]; P) 19 octobre 2006 (2006-10-19) * Page 1 lines 29-30; page 9 line 15 - page 10 line 22 *	1-6, 8-13,15
Y	URBAN NILSSON ET AL: "Cereal fructans: Hydrolysis by yeast invertase, in vitro and during fermentation", JOURNAL OF CEREAL SCIENCE, vol. 6, no. 1, 1 juillet 1987 (1987-07-01), pages 53-60, XP055141767, ISSN: 0733-5210, DOI: 10.1016/S0733-5210(87)80040-1 * abrégé *	1-6, 8-13,15
A	WO 2008/133512 A1 (CSM NEDERLAND BV [NL]; BRINKER EVA-MARIA [DE]; SCHMIDT KERSTIN [DE]) 6 novembre 2008 (2008-11-06) * Abstract; page 7; revendications 1,8 *	7,14
A	APOLINÁRIO ALEXSANDRA CONCEIÇÃO ET AL: "Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology", CARBOHYDRATE POLYMERS, vol. 101, janvier 2014 (2014-01), pages 368-378, XP028790600, ISSN: 0144-8617, DOI: 10.1016/J.CARBPOL.2013.09.081 * le document en entier *	1-15

RAPPORT DE RECHERCHE DE TYPE INTERNATIONAL

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande de recherche n°

BE 201400598

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
W0 2006108697	A1	19-10-2006	AU 2006233744 A1 19-10-2006
		BR P10608781 A2 26-01-2010	
		CA 2603915 A1 19-10-2006	
		JP 5249747 B2 31-07-2013	
		JP 2008535983 A 04-09-2008	
		US 2008255249 A1 16-10-2008	
		W0 2006108697 A1 19-10-2006	
W0 2008133512	A1	06-11-2008	CA 2685267 A1 06-11-2008
		EP 2141999 A1 13-01-2010	
		US 2010143534 A1 10-06-2010	
		W0 2008133512 A1 06-11-2008	



OPINION ÉCRITE

Dossier N° SN63149	Date du dépôt (jour/mois/année) 04.08.2014	Date de priorité (jour/mois/année) 24.06.2014	Demande n° BE201400598
Classification internationale des brevets (CIB) INV. A23L1/308 A23L1/015 C08B37/00			
Déposant COSUCRA GROUPE WARCOING S.A.			

La présente opinion contient des indications et les pages correspondantes relatives aux points suivants :

- ☒ Cadre n° I Base de l'opinion
- ☐ Cadre n° II Priorité
- ☐ Cadre n° III Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- ☐ Cadre n° IV Absence d'unité de l'invention
- ☒ Cadre n° V Déclaration motivée quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- ☐ Cadre n° VI Certains documents cités
- ☐ Cadre n° VII Irrégularités dans la demande
- ☐ Cadre n° VIII Observations relatives à la demande

Formulaire BE237A (feuille de couverture) (Janvier 2007)	Examineur Picout, David
--	----------------------------

Cadre n° I Base de l'opinion

1. Cette opinion a été établie sur la base des revendications déposées avant le commencement de la recherche.
2. En ce qui concerne **la ou les séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande, le cas échéant, cette opinion a été effectuée sur la base des éléments suivants :
 - a. Nature de l'élément:
 - ☐ un listage de la ou des séquences
 - ☐ un ou des tableaux relatifs au listage de la ou des séquences
 - b. Type de support:
 - ☐ sur papier
 - ☐ sous forme électronique
 - c. Moment du dépôt ou de la remise:
 - ☐ contenu(s) dans la demande telle que déposée
 - ☐ déposé(s) avec la demande, sous forme électronique
 - ☐ remis ultérieurement
3. ☐ De plus, lorsque plus d'une version ou d'une copie d'un listage des séquences ou d'un ou plusieurs tableaux y relatifs a été déposée, les déclarations requises selon lesquelles les informations fournies ultérieurement ou au titre de copies supplémentaires sont identiques à celles initialement fournies et ne vont pas au-delà de la divulgation faite dans la demande internationale telle que déposée initialement, selon le cas, ont été remises.
4. Commentaires complémentaires :

OPINION ÉCRITE

Demande n°

BE201400598

Cadre n° V Opinion motivée quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui :	Revendications	1-14
	Non :	Revendications	15
Activité inventive	Oui :	Revendications	7, 14
	Non :	Revendications	1-6, 8-13, 15
Possibilité d'application industrielle	Oui :	Revendications	1-15
	Non :	Revendications	

2. Citations et explications

voir feuille séparée

Ad point V

Déclaration motivée quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Il est fait référence aux documents suivant:

- D1 YOON S-H ET AL: "Specificity of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in removing carbohydrates by fermentation", CARBOHYDRATE RESEARCH, PERGAMON, GB, vol. 338, no. 10, 1 mai 2003 (2003-05-01), pages 1127-1132, XP004421303, ISSN: 0008-6215, DOI: 10.1016/S0008-6215(03)00097-1
- D2 R J ROUWENHORST ET AL: "Localization of inulinase and invertase in *Kluyveromyces* species", APPL. ENVIRON. MICROBIOL., vol. 56, no. 11, 1 janvier 1990 (1990-01-01), pages 3329-3336, XP055141764,
- D3 WO 2006/108697 A1 (BAYER CROPSCIENCE GMBH [DE]; HELLWEGE ELKE [DE]; PEETERS ROGER [NL]; P) 19 octobre 2006 (2006-10-19)
- D4 URBAN NILSSON ET AL: "Cereal fructans: Hydrolysis by yeast invertase, in vitro and during fermentation", JOURNAL OF CEREAL SCIENCE, vol. 6, no. 1, 1 juillet 1987 (1987-07-01), pages 53-60, XP055141767, ISSN: 0733-5210, DOI: 10.1016/S0733-5210(87)80040-1

2. Nouveauté et activité inventive

2.1 Le document D1 peut être considéré comme étant l'état de la technique le plus proche de l'objet des revendications indépendantes 1 et 13-15 et décrit (les références entre parenthèses s'appliquent à ce document) que les levures de

Saccharomyces cerevisiae sont connues et utilisées depuis des années pour éliminer les monosaccharides et disaccharides (tels que le glucose, le fructose, le saccharose) de compositions contenant des carbohydrates mais que certains autres monosaccharides, disaccharides et oligosaccharides n'étaient pas éliminés (**abrégé; Introduction; p. 1132, dernier paragraphe**).

D1 ne décrit pas le procédé de la revendication indépendante 1 de la présente demande ainsi que la composition de la revendication 13, la levure de la revendication 14 et l'utilisation d'une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* pour réduire la quantité de saccharose dans une composition comprenant du saccharose et du fructose (revendication indépendante 15).

Au vu de D1, les revendications indépendantes 1 et 13-15 ainsi que leur dépendantes 2-12 semblent nouvelles.

2.2 Le document D2 peut aussi être considéré comme étant l'état de la technique le plus proche de l'objet des revendications indépendantes 1 et 13-15 et décrit (les références entre parenthèses s'appliquent à ce document) que les levures de type *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* éliminent ou réduisent le saccharose (sucrose) et pas l'inuline (fructose) (abrégé; figures 1, 3; tableau 1).

Le document D2 décrit donc l'utilisation d'une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* pour réduire la quantité de saccharose dans une composition comprenant du saccharose et du fructose.

Au vu de D2, la revendication indépendante 15 ne semble donc pas nouvelle.

D2 ne décrit pas le procédé de la revendication indépendante 1 de la présente demande ainsi que la composition de la revendication 13 et la levure de la revendication 14.

Au vu de D2, les revendications indépendantes 1 et 13-14 ainsi que leur dépendantes 2-12 semblent nouvelles.

3. Activité inventive

3.1 Le document D3 décrit une inuline à longue chaîne et sa préparation à partir de racines d'artichauts, ainsi que son utilisation dans des produits alimentaires et dans des préparations cosmétiques.

D3 décrit qu'il est désirable de produire une inuline qui a un faible contenu en monosaccharides et disaccharides et en fructooligosaccharides. D3 parle de la purification de l'inuline (p. 1, lignes 29-30; p. 9, ligne 15 à p. 10, ligne 22).

3.2 Le document D4 décrit l'action de certaines levures sur du fructose en comparaison avec du sucrose et de l'inuline (**abrégé**).

En vue de la connaissance des documents D1 et/ou D2, en combinaison avec D3 et/ou D4, il semblerait évident pour l'homme du métier d'arriver au procédé de la revendication 1 de la présente invention ainsi qu'à la composition de la revendication 13, comprenant du fructose, du saccharose et au moins une levure du type *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* étant donné qu'il est connu que les levures de type *Saccharomyces* et *Kluyveromyces* éliminent ou réduisent le saccharose et pas le fructose dans un mélange de carbohydrates comprenant du saccharose et du fructose.

L'utilisation (revendication indépendante 15) d'une levure choisie dans le groupe constitué de *Saccharomyces* et *Kluyveromyces*, pour réduire la quantité de saccharose dans une composition comprenant du saccharose et du fructose semble aussi non-inventive en vue de la combinaison des documents mentionnés ci-dessus.

Les revendications indépendantes 1, 13 et 15 ne semblent donc pas satisfaire aux conditions en ce qui concerne l'activité inventive en vue de D1 et/ou D2 en combinaison avec D3 et/ou D4.

3.3 En vue de D1-D4 en combinaison, les revendications dépendantes 2-6 et 8-12 ne semble pas contenir de caractéristiques supplémentaires qui satisfassent aux exigences d'activité inventive en étant combinées aux caractéristiques de l'une quelconque des revendications auxquelles ladite revendication dépendante est liée.

3.4 En vue des documents D1-D6 cités dans le rapport de recherche, les revendications 7 et 14 semblent satisfaire aux exigences d'activité inventive car aucun de ces documents ne dévoile ni ne suggère la levure *Saccharomyces bayanus* var. *uvorum* déposé dans les Collections coordonnées belges de micro-organismes (BCCM) avec le numéro d'ordre MUCL 55125.