

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 727 083**

51 Int. Cl.:

C08B 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.06.2015 PCT/EP2015/064215**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.12.2015 WO15197670**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.06.2015 E 15736212 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2019 EP 3161011**

54 Título: **Métodos y composiciones para procesar fibras dietéticas**

30 Prioridad:

24.06.2014 EP 14173660
04.08.2014 BE 201400598

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.10.2019

73 Titular/es:

COSUCRA-GROUPE WARCOING S.A. (100.0%)
1 rue de la Sucrierie
7740 Warcoing, BE

72 Inventor/es:

DENIS, ROBIN;
DURIEUX, ALAIN y
FOUGNIES, CHRISTIAN

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 727 083 T3

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

DESCRIPCIÓN

Métodos y composiciones para procesar fibras dietéticas

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a métodos y composiciones para procesar fibras dietéticas. En particular, la presente invención se refiere a métodos de purificación de inulina, preferiblemente composiciones que contienen inulina de achicoria por medio de la incubación de tales composiciones con levadura para llevar a cabo la degradación y eliminación de azúcares libres.

Antecedentes de la invención

10 Las fibras dietéticas son hidratos de carbono comestibles, que ni se digieren ni se absorben en el intestino delgado humano y que se han obtenido a partir de material alimenticio por medios físicos, enzimáticos o químicos y que tienen un efecto fisiológico beneficioso. En general, las fibras dietéticas pasan intactas a través de gran parte del sistema digestivo y pueden fermentarse total o parcialmente por la microbiota intestinal.

15 Las fibras dietéticas pueden ser solubles en agua o insolubles en agua. Entre las fibras dietéticas solubles en agua están los fructanos. Los fructanos son esencialmente polímeros compuestos por residuos de fructosa, que terminan o no con una unidad de glucosa en la que estaría en cualquier caso el extremo reductor. La posición de unión de los residuos de fructosa determina el tipo del fructano. La unión se produce normalmente en uno de los dos hidroxilos primarios (OH-1 u OH-6), y hay dos tipos básicos de fructano simple: inulina (los residuos de fructosilo se unen mediante enlaces β -2,1) y levano (los residuos de fructosilo se unen mediante enlaces β -2,6). Los fructanos pueden encontrarse en muchas plantas, así como en microorganismos, donde se almacenan como una forma de energía. Por ejemplo, la inulina se produce en cantidades particularmente altas en las raíces de achicoria.

20 La producción industrial de inulina a partir de, por ejemplo, la raíz de achicoria, normalmente implica la extracción mediante agua caliente. Este método produce un extracto rico en inulina. Sin embargo, también se extraen conjuntamente azúcares libres (por ejemplo glucosa, fructosa y sacarosa). Un extracto rico en inulina normalmente contiene aproximadamente el 70-85% en peso de inulina y el 5-13% en peso de azúcares libres, junto con el 10-17% en peso de otras impurezas (por ejemplo sales, proteínas, etc.) basado en la materia seca. Sin embargo, la composición exacta de, por ejemplo, los extractos ricos en inulina de achicoria varían y por ejemplo depende de las condiciones de crecimiento, de la fecha de la cosecha, de la variedad de achicoria, etc.

25 El método para purificar el extracto rico en inulina normalmente consta de varias etapas, incluyendo por ejemplo separación sólido/líquido, intercambio iónico, filtración en carbono activado, etc. en que se retiran la mayoría de las impurezas y se obtiene una composición rica en inulina. Sin embargo, los azúcares libres que tienen una estructura y/o características químicas muy similares a las de fibras tales como los fructanos, en particular la inulina, la mayoría de las veces no se eliminan de la composición rica en inulina, y estos pueden representar entre el 6 y el 16% de la materia seca (basado en la materia seca, por ejemplo el 1-2% en peso de glucosa, el 1,5-7% en peso de fructosa y el 3,5-7% en peso de sacarosa en las composiciones ricas en inulina procedentes de las raíces de achicoria).

30 Aunque son similares desde el punto de vista fisicoquímico y estructural a las fibras, tales como los fructanos, estos azúcares libres destacan sin embargo por sus propiedades nutricionales, en vista de su alta digestibilidad, que proporciona por tanto un alto valor calórico en contraposición a las fibras. Por tanto, grandes cantidades de impurezas de azúcares libres en las composiciones de fibras dietéticas suponen un problema, por ejemplo, para los diabéticos. Desde este punto de vista, es sumamente aconsejable minimizar el contenido de tales azúcares libres en la composición rica en inulina. Además, desde el punto de vista técnico, con frecuencia las fibras producidas industrialmente se facilitan a los consumidores en forma de jarabes o polvos. En este último caso, la última etapa del procedimiento puede implicar secado por pulverización. La eficacia de esta técnica bien conocida disminuye a medida que aumenta el contenido azúcares libres, siendo estos últimos más "difíciles de secar" debido a su higroscopicidad relativa (principalmente la fructosa), de manera que aumentar la eliminación de azúcares libres, y en particular de fructosa, antes del secado no sólo tiene ventajas técnicas nutricionales, sino también técnicas.

35 Hay varios modos de separar los azúcares libres de los extractos de fibras, por ejemplo precipitación fraccionada basada en la solubilidad relativa o cromatografía. Sin embargo, estas técnicas de separación fisicoquímica son muy caras y tienen un rendimiento a escala limitado. La técnica de precipitación fraccionada se usa industrialmente para la producción de fibras que contienen cantidades reducidas de azúcares libres. Esta técnica se basa en la solubilidad diferencial de las moléculas de hidratos de carbono de diferentes pesos moleculares. La cromatografía a escala industrial permite la separación de azúcares libres en diferentes variedades de tipos de fibra y la eficacia es mayor que en el caso de la precipitación fraccionada, pero sigue siendo baja. En cualquier caso, no es posible separar los azúcares libres sin que haya una pérdida de fibras.

40 Yoon *et al.* (Especificidad of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in removing carbohydrate by fermentation, 2003, Carbohydrate research 338 1127-1132) describe la especificidad de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en la retirada de hidratos de carbono mediante fermentación.

Rouwenhorst *et al.* (Localisation of inulinase and invertase in *Kluyveromyces* species, 1990, Appl. Environ. Microbiol., 56(11) 3329-3336) da a conocer los efectos de diversas especies de *Kluyveromyces* y *Saccharomyces* sobre la hidrólisis de inulina y sacarosa. Rouwenhorst *et al.* se refieren en particular a la comparación de las cepas de *Kluyveromyces* y *Saccharomyces* con respecto a la localización de actividades de hidrólisis de sacarosa y al estudio de en qué grado depende el consumo de inulina de la presencia de inulinasa en el fluido de cultivo.

El documento WO2006/108697 describe preparaciones de inulina y se refiere a proporcionar inulina con bajo contenido en mono y disacáridos. La solución a este problema se proporciona en el documento WO2006/108697 mediante precipitación con etanol para concentrar inulina, seguido por la incubación selectiva con enzimas con el fin de retirar los mono y disacáridos.

Nillson *et al.* (Cereal fructans: hydrolysis by yeast Invertase, In vitro and during fermentation, 1986, Journal of Cereal Science 6 53-60) describe la hidrólisis de fructanos. El objetivo de Nillson *et al.* es evaluar en qué grado se hidrolizan los fructanos por las levaduras durante la preparación de la masa. En vista de lo anterior, existe todavía la necesidad de desarrollar métodos alternativos o mejorados para eliminar azúcares libres de composiciones de fibra dietética, en particular composiciones de inulina. Por consiguiente, uno de los objetos de la presente invención es superar o mejorar al menos una de las desventajas de la técnica anterior, o proporcionar una alternativa útil.

Sumario de la invención

Los presentes inventores han encontrado sorprendentemente que la eficacia, el rendimiento, la rentabilidad y/o la velocidad del procesamiento o la purificación de la inulina, preferiblemente de la inulina de achicoria, pueden mejorarse notablemente mediante la incubación de una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, con una o más especies de levadura, en particular especies de levadura seleccionadas del grupo que comprende o que consiste en o que consiste esencialmente en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*. Se ha encontrado que estas levaduras permiten la rápida retirada, eliminación, reducción o fermentación de azúcares libres (en particular de glucosa, fructosa y sacarosa) de una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, con mayor especificidad para azúcares libres en relación con la inulina, preferiblemente inulina de achicoria. Como consecuencia, aumenta la eficacia de la purificación de inulina, preferiblemente de inulina de achicoria, y aumenta el rendimiento final de la inulina, preferiblemente de inulina de achicoria, en comparación con el procesamiento de una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa sin estas una o más levaduras. Como tal, el presente método reduce las pérdidas de inulina, preferiblemente de inulina de achicoria, durante el procesamiento, tal como la purificación, de tal composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa. Según los métodos tal como se describe en el presente documento, el procesamiento o (la purificación) de la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, conduce a concentraciones de azúcares libres reducidas en al menos el 10% en comparación con composiciones que comprenden inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa que no se han procesado según los métodos de la presente invención. En algunas realizaciones, la composición al final del procedimiento puede estar, por ejemplo, libre de sacarosa. Los presentes inventores han observado un equilibrio ventajoso particular entre, por una parte, la especificidad de la especie de levadura dadas a conocer para retirar, reducir, eliminar y/o fermentar azúcares libres, en particular sacarosa, pero también fructosa y glucosa, frente a una degradación no deseada de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, y por otra parte, la velocidad de la retirada, reducción, eliminación y/o fermentación de azúcares libres.

Por tanto, en un aspecto, la presente invención se refiere a un método para procesar, purificar, tratar y/o almacenar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende incubar una levadura seleccionada del grupo que comprende o que consiste o que consiste esencialmente en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* con tal composición. En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un método para retirar, eliminar, reducir y/o fermentar azúcares libres (en particular de glucosa, fructosa y sacarosa) de una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de incubar tal composición con una levadura seleccionada del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*.

Preferiblemente, la presente invención se refiere a un método para procesar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende las etapas de (a) proporcionar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende al menos el 30% en peso (% p/p) de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición; y (b) incubar dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa con al menos una levadura seleccionada del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*; hasta que se obtiene una reducción de al menos el 10% del peso inicial de sacarosa en dicha composición.

La presente invención también engloba una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria, sacarosa y al menos una levadura seleccionada del grupo que consiste en *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis* y *Saccharomyces boulardii*, en la que dicha composición comprende al menos el 30% en peso (% p/p) de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición.

La presente invención también engloba una levadura depositada en las Colecciones Coordinadas Belgas de Microorganismos (BCCM; Université catholique de Louvain, Mycothèque de l'Université catholique de Louvain (MUCL), Croix du Sud 2, box L7,05.06, 1348 Louvain-la-Neuve, Bélgica) con el número de registro MUCL 55125; depositada el 22 de octubre de 2013; Depositante: Cosucra groupe Warcoing, rue de la Sucrierie 1, 7740 Warcoing, Bélgica.

La presente invención también engloba el uso de una levadura seleccionada del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* para reducir la cantidad de sacarosa en una composición que comprende sacarosa y al menos el 30% en peso (% p/p) de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición.

Las reivindicaciones independientes y dependientes exponen características particulares y preferidas de la invención. Características de las reivindicaciones dependientes pueden combinarse con características de las reivindicaciones independientes y otras dependientes, según sea apropiado. Las reivindicaciones adjuntas también se incluyen explícitamente en la descripción.

Las características, rasgos distintivos y ventajas anteriores y otros de la presente invención resultarán evidentes a partir de las siguientes descripciones detalladas, tomadas conjuntamente con los dibujos adjuntos, que ilustran, a modo de ejemplo, los principios de la invención. Las figuras de referencia citadas a continuación se refieren a los dibujos adjuntos.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: representa un gráfico que muestra el crecimiento (medido como la densidad óptica a 660 nm) a lo largo del tiempo a 30°C de *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70 incubada con la composición B1.

Figura 2: representa un gráfico que muestra el crecimiento (medido como la densidad óptica a 660 nm) a lo largo del tiempo a 30°C de *Kluyveromyces lactis* CBS 2103 incubada con la composición B2.

Figura 3: representa un gráfico que muestra el crecimiento (medido como la densidad óptica a 660 nm) a lo largo del tiempo a 30°C de *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495 incubada con la composición B3.

Figura 4: representa un gráfico que muestra el crecimiento (medido como la densidad óptica a 660 nm) a lo largo del tiempo a 30°C de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491 incubada con la composición B4.

Figura 5: representa gráficos que muestran el crecimiento (medido como la densidad óptica a 660 nm) a lo largo del tiempo a 30°C (A) y a 20°C (B) de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 incubada con la composición B5.

Figura 6: representa un gráfico que muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B1 incubada con *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

Figura 7: representa un gráfico que muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B1 incubada con *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

Figura 8: representa un gráfico que muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B2 incubada con *Kluyveromyces lactis* (CBS 2103). Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

Figura 9: representa un gráfico que muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B2 incubada con *Kluyveromyces lactis* (CBS 2103). Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

Figura 10: representa un gráfico que muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B3 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

Figura 11: representa un gráfico que muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B3 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

Figura 12: representa un gráfico que muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B4 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

Figura 13: representa un gráfico que muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B4 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanoculombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

- 5 Figura 14: representa un gráfico que muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B5 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

- 10 Figura 15: representa un gráfico que muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B5 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanoculombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

Figura 16: representa un gráfico que muestra el crecimiento (medido como la densidad óptica a 660 nm) a lo largo del tiempo a 30°C de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 incubada con la composición C.

- 15 Figura 17: representa un gráfico que muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 30°C de la composición C incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p).

- 20 Figura 18: representa un gráfico que muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 30°C de la composición C incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanoculombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

Figura 19: representa un gráfico que muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 20°C de la composición D incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p).

- 25 Figura 20: representa un gráfico que muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 20°C de la composición D incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanoculombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

- 30 Figura 21: representa un gráfico que muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 20°C de la composición E incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p).

Figura 22: representa un gráfico que muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 20°C de la composición E incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanoculombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

- 35 Figura 23: representa un gráfico que muestra el crecimiento (medido como la densidad óptica a 660 nm) a lo largo del tiempo a 30°C de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 incubada con la composición A1.

Figura 24: representa gráficos que muestran la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 20°C (A) y a 30°C (B) de la composición A1 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p).

- 40 Figura 25: representa gráficos que muestran la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 20°C (A) y 30°C (B) de la composición A1 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanoculombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

- 45 Figura 26: representa un gráfico que muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 4°C de la composición A2 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p).

- 50 Figura 27: representa un gráfico que muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 4°C de la composición A2 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanoculombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

Figura 28: representa un gráfico que muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 25°C con aireación de la composición A3 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p).

Figura 29 representa un gráfico que muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 25°C con aireación de la composición A3 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

- 5 Figura 30 representa un gráfico que muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B6 incubada con *Rhodotolula dairenensis* (CBS 7294). Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p).

- 10 Figura 31 representa un gráfico que muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B6 incubada con *Rhodotolula dairenensis* (CBS 7294). Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

Figura 32 representa un gráfico que muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B7 incubada con *Aureobasidium Pullulans* (CBS 621.80). Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p).

- 15 Figura 33 representa un gráfico que muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B7 incubada con *Aureobasidium Pullulans* (CBS 621.80). Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

- 20 Figura 34: representa un gráfico que muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 30°C de la composición F incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p).

- 25 Figura 35: representa un gráfico que muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 30°C de la composición F incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

Figura 36: representa un gráfico que muestra el crecimiento (medido como la densidad óptica a 660 nm) a lo largo del tiempo a 20°C de *Kluyveromyces lactis* CBS 2103 incubada con la composición C.

- 30 Figura 37: representa un gráfico que muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 20°C de la composición C incubada con *Kluyveromyces lactis* (CBS 2103). Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

Figura 38: representa un gráfico que muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 20°C de la composición C incubada con *Kluyveromyces lactis* (CBS 2103). Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

35 Descripción detallada de la invención

- Antes de describir los presentes métodos de la invención, ha de entenderse que esta invención no se limita a los métodos, componentes, productos o combinaciones particulares descritos, ya que tales métodos, componentes, productos y combinaciones, naturalmente, pueden variar. También ha de entenderse que no se pretende que la terminología usada en el presente documento sea limitativa, puesto que el alcance de la presente invención se limitará sólo por las reivindicaciones adjuntas.

Tal como se usa en el presente documento, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen tanto referentes en singular como en plural, a menos que el contexto indique claramente otra cosa.

- 45 Los términos “que comprende”, “comprende” y “compuesto por” tal como se usan en el presente documento son sinónimos de “que incluye”, “incluye” o “que contiene”, “contiene”, y son inclusivos o abiertos y no excluyen miembros, elementos o etapas de método adicionales, no citados. Se apreciará que los términos “que comprende”, “comprende” y “compuesto por” tal como se usan en el presente documento comprenden los términos “que consiste en”, “consiste” y “consiste en”, así como los términos “que consiste esencialmente en”, “consiste esencialmente” y “consiste esencialmente en”.

- 50 La enumeración de intervalos numéricos mediante puntos finales incluye todos los números y fracciones incluidos dentro de los intervalos respectivos, así como los puntos finales citados.

El término “aproximadamente” o “alrededor de” tal como se usa en el presente documento cuando se hace referencia a un valor medible tal como un parámetro, una cantidad, una duración temporal, y similares, pretende englobar variaciones de +/- el 20% o menos, preferiblemente +/- el 10% o menos, más preferiblemente +/- el 5% o menos, y todavía más preferiblemente +/- el 1% o menos de y desde el valor especificado, en la medida en que tales

variaciones sean apropiadas para realizar la invención dada a conocer. Ha de entenderse que también se da a conocer por sí mismo de manera específica y preferible el valor al que se refiere el modificador “aproximadamente” o “alrededor de”.

5 Aunque los términos “uno o más” o “al menos uno”, tal como uno o más o al menos un(os) miembro(s) de un grupo de miembros, están claros *per se*, por medio de ejemplificación adicional, el término engloba entre otros una referencia a uno cualquiera de dichos miembros, o cualesquiera dos o más de dichos miembros, tales como, por ejemplo, cualquiera de ≥ 3 , ≥ 4 , ≥ 5 , ≥ 6 o ≥ 7 , etc. de dichos miembros, y hasta la totalidad de dichos miembros.

10 Todas las referencias citadas en la presente memoria descriptiva se incorporan al presente documento como referencia en su totalidad. En particular, las enseñanzas de todas las referencias a las que se alude específicamente en el presente documento se incorporan como referencia.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos usados en la divulgación de la invención, incluyendo los términos técnicos y científicos, tienen el significado que normalmente entiende un experto habitual en la técnica a la que pertenece esta invención. A modo de guía adicional, se incluyen definiciones de términos para apreciar mejor la enseñanza de la presente invención.

15 En los siguientes apartados, se definen diferentes aspectos de la invención en más detalle. Cada aspecto así definido puede combinarse con cualquier otro aspecto o aspectos a menos que se indique claramente lo contrario. En particular, cualquier característica indicada como preferida o ventajosa puede combinarse con cualquier otra característica o características indicadas como preferidas o ventajosas.

20 La referencia a lo largo de toda esta memoria descriptiva a “una realización” significa que se incluye un rasgo distintivo, estructura o característica particular en relación con la realización en al menos una realización de la presente invención. Por tanto, las apariciones de la expresión “en una realización” en diversos lugares a lo largo de toda esta memoria descriptiva no se refieren necesariamente todas ellas a la misma realización, pero pueden hacerlo. Además, los rasgos distintivos, estructuras o características particulares pueden combinarse de cualquier manera adecuada, tal como resultará evidente para un experto en la técnica de esta divulgación, en one o más realizaciones. Además, aunque algunas realizaciones descritas en el presente documento incluyen algunas pero no otras características incluidas en otras realizaciones, se pretende que combinaciones de características de diferentes realizaciones estén dentro del alcance de la invención, y formen diferentes realizaciones, tal como entenderán los expertos en la técnica. Por ejemplo, en las reivindicaciones adjuntas, puede usarse cualquiera de las realizaciones reivindicadas en cualquier combinación.

30 En la siguiente descripción detallada de la invención, se hace referencia a los dibujos adjuntos que forman parte de la misma, y en los que se muestran solo a modo de ilustración de realizaciones específicas en las que puede ponerse en práctica la invención. Ha de entenderse que pueden utilizarse otras realizaciones y que pueden realizarse cambios estructurales o lógicos sin apartarse del alcance de la presente invención. Por tanto, la siguiente descripción detallada no debe considerarse en un sentido limitativo, y el alcance de la presente invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

35 Las afirmaciones (características) y realizaciones preferidas de esta invención se exponen a continuación en el presente documento. Cada afirmación y realización de la invención así definida puede combinarse con cualquier otra afirmación y/o realización, a menos que se indique claramente lo contrario. En particular, cualquier característica indicada como preferida o ventajosa puede combinarse con cualquier otra característica o afirmación indicada como preferida o ventajosa. Por lo tanto, la presente invención queda reflejada en particular por uno cualquiera o cualquier combinación de uno o más de los aspectos y realizaciones 1 a 74 enumerados a continuación, con cualquier otra afirmación y/o realización.

40 1. Un método para procesar una composición que comprende fructano y sacarosa, que comprende las etapas de (a) proporcionar una composición que comprende fructano y sacarosa, en el que dicha composición que comprende fructano y sacarosa comprende al menos el 30% en peso (% p/p) de fructano basado en el peso de materia seca total de dicha composición; y (b) incubar dicha composición que comprende fructano y sacarosa con al menos una levadura seleccionada del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*; hasta que se obtiene una reducción de al menos el 10% del peso inicial de sacarosa en dicha composición, en el que dicho fructano es inulina, preferiblemente inulina de achicoria.

50 2. El método según la afirmación 1, en el que dicha al menos una levadura se selecciona del grupo que consiste en *Saccharomyces bayanus*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces boulardii*, preferiblemente se selecciona del grupo que consiste en *Saccharomyces bayanus* y *Kluyveromyces lactis*, más preferiblemente *Saccharomyces bayanus*.

55 3. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 o 2, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, al comienzo de la incubación, comprende además uno o más azúcares libres (distintos de sacarosa), preferiblemente en el que dichos azúcares libres se seleccionan del grupo que comprende glucosa y fructosa.

4. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 3, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, al comienzo de la incubación, comprende además uno o más azúcares libres seleccionados del grupo que comprende que consiste o que consiste esencialmente en glucosa y fructosa.
- 5 5. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 4, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, al comienzo de la incubación, comprende al menos el 1% en peso de azúcares libres basado en el peso de materia seca total de la composición.
6. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 5, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, al comienzo de la incubación, comprende como máximo el 70% en peso de azúcares libres basado en el peso de materia seca total de la composición.
- 10 7. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 6, en el que dicha inulina, preferiblemente inulina de achicoria tiene un grado de polimerización promedio (DP) en número de al menos 3, por ejemplo al menos 5, por ejemplo al menos 7, por ejemplo al menos 10, por ejemplo al menos 15, por ejemplo al menos 20, por ejemplo al menos 25, por ejemplo al menos 70.
- 15 8. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 7, en el que dicha inulina, preferiblemente inulina de achicoria tiene un DP promedio en número que oscila entre 3 y 30.
9. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 11, en el que dicha inulina, preferiblemente inulina de achicoria es inulina que tiene un DP que oscila entre 2 y aproximadamente 100.
- 20 10. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 12, en el que dicha inulina, preferiblemente inulina de achicoria es inulina que tiene unas fórmulas GF_n y/o F_m , en las que G representa una unidad de glucosa, F representa una unidad de fructosa, n es un número entero que representa el número de unidades de fructosa unidas a la unidad de glucosa terminal, y m es un número entero que representa el número de unidades de fructosa unidas entre sí en la cadena de hidrato de carbono, en las que n es al menos 2, y m es al menos 2.
- 25 11. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 13, en el que dicha inulina, preferiblemente inulina de achicoria se hidroliza parcialmente.
12. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 14, en el que dicha inulina, preferiblemente inulina de achicoria comprende o consiste o consiste esencialmente en fructooligosacáridos.
- 30 13. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 15, en el que dicha inulina, preferiblemente inulina de achicoria comprende o consiste o consiste esencialmente en fructooligosacáridos, y en el que dichos fructooligosacáridos tienen un DP promedio en número de al menos 3 y como máximo 7.
14. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 16, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende al menos el 40% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria basado en el peso de materia seca total de la composición, preferiblemente al menos el 50% en peso, incluso más preferiblemente al menos el 60% en peso.
- 35 15. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 17, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende como máximo el 99% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria basado en el peso de materia seca total de la composición.
- 40 16. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 18, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende al menos el 30% en peso y como máximo el 99% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria basado en el peso de materia seca total de la composición, preferiblemente al menos el 40% en peso, preferiblemente al menos el 50% en peso, incluso más preferiblemente al menos el 60% en peso.
- 45 17. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 19, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa es una composición líquida, preferiblemente una composición acuosa.
18. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 20, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende al menos el 5% en peso de materia seca basado en el peso total de la composición, preferiblemente al menos el 8% en peso, preferiblemente al menos el 10% en peso.
- 50 19. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 21, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende al menos el 5% en peso y como máximo el 80% en peso de materia seca basado en el peso total de la composición, por ejemplo al menos el 8% en peso, preferiblemente al menos el 10% en peso, preferiblemente como máximo el 70% en peso, preferiblemente como máximo el 60% en peso, preferiblemente como máximo el 55% en peso, preferiblemente como máximo el 50% en peso.

20. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 22, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende como máximo el 80% en peso de materia seca basado en el peso total de la composición, preferiblemente como máximo el 70% en peso, preferiblemente como máximo el 60% en peso, preferiblemente como máximo el 55% en peso, preferiblemente como máximo el 50% en peso.
- 5 21. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 23, que comprende además la etapa de añadir una fuente de nitrógeno a dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, antes y/o durante la etapa (b), preferiblemente añadir extracto de levadura.
22. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 24, que comprende además una o ambas de las etapas de airear y agitar la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa durante la incubación con dicha levadura.
- 10 23. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 25, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se incuba con dicha levadura a una temperatura de al menos el punto de congelación de la composición, preferiblemente por encima del punto de congelación de dicha composición.
- 15 24. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 26, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se incuba con dicha levadura a una temperatura de al menos - 5°C, preferiblemente al menos 0°C, por ejemplo al menos 5°C, por ejemplo al menos 10°C, por ejemplo al menos 15°C, por ejemplo al menos 20°C.
- 20 25. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 27, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se incuba con dicha levadura a una temperatura de como máximo 40°C, por ejemplo como máximo 35°C, por ejemplo como máximo 30°C.
- 25 26. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 28, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se incuba con dicha levadura a una temperatura de al menos el punto de congelación de dicha composición y como máximo 40°C, por ejemplo al menos -5°C y como máximo 40°C, por ejemplo al menos 0°C y como máximo 35°C, por ejemplo al menos 5°C y como máximo 33°C, por ejemplo al menos 10°C y como máximo 30°C, por ejemplo al menos 15°C y como máximo 30°C, por ejemplo al menos 20°C y como máximo 30°C.
- 30 27. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 29, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se incuba con dicha levadura hasta que se obtiene una reducción de al menos el 20% del peso inicial de azúcares libres en dicha composición, preferiblemente una reducción de al menos el 30%, por ejemplo al menos el 40%, por ejemplo al menos el 50%; preferiblemente al menos el 60%, por ejemplo al menos el 70%, por ejemplo al menos el 80%, preferiblemente al menos el 90%, preferiblemente al menos el 95%, por ejemplo al menos el 98%, por ejemplo una reducción de al menos el 99%.
- 35 28. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 30, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se incuba con dicha levadura durante al menos 5 horas, preferiblemente durante al menos 10 horas.
- 40 29. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 31, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se incuba con dicha levadura durante como máximo 12 meses.
- 45 30. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 32, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se incuba con dicha levadura a un pH de al menos 2,5, preferiblemente un pH de al menos 3,0, preferiblemente un pH de al menos 3,5.
- 50 31. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 33, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se incuba con dicha levadura a un pH de como máximo 8,5, por ejemplo a un pH de como máximo 8,0, por ejemplo a un pH de como máximo 7,5, por ejemplo a un pH de como máximo 7,0.
32. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 34, que comprende incubar al comienzo de dicha incubación al menos 10^3 unidades formadoras de colonias (UFC) per ml, por ejemplo al menos 10^4 UFC de dicha levadura por ml de dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa.
33. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 35, que comprende incubar al comienzo de dicha incubación como máximo 10^{10} UFC/ml, por ejemplo como máximo 10^9 UFC/ml, por ejemplo como máximo 10^8 UFC de dicha levadura por ml de dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa.
34. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 36, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, al comienzo de la incubación, comprende al menos el 1% en peso y

como máximo el 70% en peso de azúcares libres incluyendo dicha sacarosa basado en el peso de materia seca total de la composición.

35. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 37, en el que la composición de la etapa (a) se obtiene mediante extracción con agua caliente de un material que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria.
- 5 36. El método según la afirmación 38, en el que dicho material que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria es de origen vegetal.
37. El método según la afirmación 38 o 39, en el que dicho material que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria es achicoria.
- 10 38. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 40, en el que la composición de la etapa (a) se obtiene usando un método que comprende las etapas de (i) extracción con agua caliente de un material que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria, y (ii) filtración del extracto con agua caliente recuperando de ese modo una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa de la etapa (a).
- 15 39. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 41, en el que la composición de la etapa (a) se obtiene usando un método que comprende las etapas de (i) extracción con agua caliente de un material que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria, (ii) filtración del extracto con agua caliente; y (iii) desmineralización del filtrado de la etapa (ii) recuperando de ese modo una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa de la etapa (a).
- 20 40. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 42, en el que la composición de la etapa (a) se obtiene usando un método que comprende las etapas de (i) extracción con agua caliente de un material que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria, (ii) filtración del extracto con agua caliente; (iii) desmineralización del filtrado de la etapa (ii); y (iv) filtración con carbón activado del filtrado de la etapa (iii) recuperando de ese modo una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa de la etapa (a).
- 25 41. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 43, que comprende además la etapa de retirar dicha levadura tras la incubación con dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa.
42. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 44, en el que dicha levadura es un lisado de dicha levadura o un extracto de dicha levadura.
- 30 43. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 45, en el que la razón en peso de azúcares libres incluyendo sacarosa con respecto a inulina, preferiblemente inulina de achicoria en dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa al comienzo de la incubación es de al menos 1:100.
- 35 44. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 46, en el que la razón en peso de azúcares libres incluyendo sacarosa con respecto a inulina, preferiblemente inulina de achicoria en dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa al comienzo de la incubación es de como máximo 2,3:1.
- 40 45. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 47, en el que la razón en peso de azúcares libres incluyendo sacarosa con respecto a inulina, preferiblemente inulina de achicoria en dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa al comienzo de la incubación es de al menos 1:100 y como máximo 2,3:1
- 40 46. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 48, en el que la *Saccharomyces* es *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* depositada en las Colecciones Coordinadas Belgas de Microorganismos (BCCM) con el número de registro MUCL 55125.
- 45 47. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 49, en el que al final de dicha etapa de incubación el peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria de dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa es como máximo el 20% menor que el peso inicial de inulina, preferiblemente inulina de achicoria al comienzo de dicha incubación, preferiblemente como máximo el 10%, lo más preferiblemente como máximo el 5%.
- 50 48. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 50, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se incuba con dicha levadura hasta que se obtiene una reducción de al menos el 20% del peso inicial de azúcares libres (incluyendo sacarosa) en dicha composición, preferiblemente una reducción de al menos el 30%, por ejemplo al menos el 40%, por ejemplo al menos el 50%, por ejemplo al menos el 60%; preferiblemente al menos el 70%, por ejemplo al menos el 80%, por ejemplo al menos el 90%, preferiblemente al menos el 95%, por ejemplo al menos el 98%, por ejemplo al menos el 99%, y el peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria de dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de

achicoria y sacarosa es como máximo el 20% menor que el peso inicial de inulina, preferiblemente inulina de achicoria al comienzo de dicha incubación, preferiblemente como máximo el 10%, lo más preferiblemente como máximo el 5%.

5 49. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 51, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se incuba con dicha levadura hasta que se obtiene una reducción de al menos el 50% del peso inicial de azúcares libres (incluyendo sacarosa) en dicha composición, preferiblemente una reducción de al menos el 60%, por ejemplo al menos el 70%, por ejemplo al menos el 80%, preferiblemente al menos el 90%, preferiblemente al menos el 95%, por ejemplo al menos el 98%, por ejemplo al menos el 99%, y el peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria de dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria es como máximo el 5% menor que el peso inicial de inulina, preferiblemente inulina de achicoria al comienzo de dicha incubación.

15 50. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 52, en el que dicha al menos una levadura se selecciona del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*; preferiblemente dicha al menos una levadura se selecciona del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis* y *Saccharomyces boulardii*; aún más preferiblemente dicha al menos una levadura se selecciona del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii* y *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum*, aún más preferiblemente dicha al menos una levadura se selecciona del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve); *Saccharomyces bayanus* MUCL 31491 (obtenida de BCCM/ MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* MUCL 31495 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus BC S103* (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces bayanus VR 44* (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum* CBS 2103 (obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL), *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre) y *Saccharomyces boulardii* (obtenida de Enteral®; biocodex gamma).

20 51. El método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 53, en el que dicha al menos una levadura se selecciona del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces*; preferiblemente dicha al menos una levadura se selecciona del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces boulardii*; más preferiblemente *Saccharomyces bayanus* y *Saccharomyces boulardii*, aún más preferiblemente dicha al menos una levadura se selecciona del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii* y aún más preferiblemente dicha al menos una levadura se selecciona del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve); *Saccharomyces bayanus* MUCL 31491 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* MUCL 31495 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus BC S103* (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces bayanus VR 44* (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre) y *Saccharomyces boulardii* (obtenida de Enteral®; biocodex gamma), y aún más preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve).

30 52. Una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria, sacarosa y al menos una levadura seleccionada del grupo que consiste en *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Kluyveromyces lactis*.

35 53. Una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria, sacarosa y al menos una levadura seleccionada del grupo que consiste en *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Kluyveromyces lactis*, en la que dicha composición comprende sacarosa y al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición.

40 54. Una levadura depositada en las Colecciones Coordinadas Belgas de Microorganismos (BCCM) con el número de registro MUCL 55125.

45 55. Uso de una levadura según la afirmación 57 para reducir la cantidad de azúcares libres incluyendo sacarosa en una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, más preferiblemente para reducir la cantidad de sacarosa en una composición que comprende sacarosa y al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición.

50 56. Uso de una levadura seleccionada del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* para reducir la cantidad de azúcares libres incluyendo sacarosa en una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, más preferiblemente para reducir la cantidad de sacarosa en una composición que comprende sacarosa y al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición.

55 57. Un método para reducir la cantidad de azúcares libres incluyendo sacarosa en una composición que comprende

inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de usar el método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 54.

58. Un método para purificar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de usar el método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 54.

5 59. Un método para almacenar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de usar el método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 54.

60. Un método para tratar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de usar el método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 54.

10 61. Un método para retirar azúcares libres, de una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de usar el método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 54.

62. Un método para reducir la cantidad azúcares libres, de una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de usar el método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 54.

15 63. Un método para eliminar azúcares libres, de una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de usar el método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 54.

64. Un método para fermentar azúcares libres, de una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de usar el método según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 54.

20 65. Uso de una levadura seleccionada del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* para reducir la cantidad de azúcares libres incluyendo sacarosa en una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, más preferiblemente para reducir la cantidad de sacarosa en una composición que comprende sacarosa y al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición o una cualquiera o más de las afirmaciones 1 a 54.

25 66. Uso según una cualquiera de las afirmaciones 59 o 68, en el que dicha levadura se selecciona del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis* y *Saccharomyces boulardii*; aún más preferiblemente dicha al menos una levadura se selecciona del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii* y *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilarum*, aún más preferiblemente dicha al menos una levadura se selecciona del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve); *Saccharomyces bayanus* MUCL 31491 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* MUCL 31495 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* BC S103 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces bayanus* VR 44 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilarum* CBS 2103 (obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL), *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre) y *Saccharomyces boulardii* (obtenida de Enteral®; biocodex gamma).

30 67. Método o uso según una cualquiera de las afirmaciones anteriores, en el que dicha levadura es *Saccharomyces bayanus*, preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve); *Saccharomyces bayanus* MUCL 31491 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* MUCL 31495 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* BC S103 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces bayanus* VR 44 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre).

35 68. Método o uso según una cualquiera de las afirmaciones anteriores, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se incuba con *Kluyveromyces*; preferiblemente *Kluyveromyces lactis*, más preferiblemente *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilarum*, por ejemplo *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilarum* CBS 2103 (por ejemplo obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL), a una temperatura por debajo de 35°C, preferiblemente por debajo de 32°C, más preferiblemente por debajo de 24°C, tal como desde -5°C hasta 35°C, por ejemplo desde 2°C hasta 35°C, por ejemplo desde -5°C hasta 32°C, por ejemplo desde 2°C hasta 32°C, por ejemplo desde -5°C hasta 24°C, por ejemplo desde 2°C hasta 24°C.

40 69. Método o uso según una cualquiera de las afirmaciones anteriores, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se incuba con *Kluyveromyces*; preferiblemente *Kluyveromyces lactis*, más preferiblemente *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilarum*, por ejemplo *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilarum* CBS 2103 (por ejemplo obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL) a un pH por encima de 4,7, preferiblemente por encima de 5,7, tal como desde 4,7 hasta 8, por ejemplo desde 5,7 hasta 8, por ejemplo desde 4,7 hasta 7, o por ejemplo desde 5,7 hasta 7.

55 70. Método o uso según una cualquiera de las afirmaciones 1 a 72, en el que dicha levadura es *Saccharomyces*

bayanus.

71. Método o uso según la afirmación 73, en el que dicha levadura se selecciona del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125; *Saccharomyces bayanus* MUCL 31491, *Saccharomyces bayanus* MUCL 31495, *Saccharomyces bayanus* BC S103 y *Saccharomyces bayanus* VR 44.

5 En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un método para procesar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de incubar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición, con al menos una levadura seleccionada del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*, hasta que se obtiene una reducción de al menos el 10% del peso inicial de sacarosa en dicha composición; así como al uso combinado o independiente de esta una o más levaduras para el fin indicado anteriormente. Dicha reducción de al menos el 10% del peso inicial de sacarosa en dicha composición puede medirse mediante cromatografía de líquidos tal como por ejemplo usando cromatografía de intercambio aniónico de alto rendimiento acoplada con detección amperométrica de pulsos (HPAEC-PAD).

10 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para purificar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de incubar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición, con al menos una levadura seleccionada del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* hasta que se obtiene una reducción de al menos el 10% del peso inicial de sacarosa en dicha composición; así como al uso combinado o independiente de esta una o más levaduras para el fin indicado anteriormente.

20 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para tratar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de incubar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición, con al menos una levadura seleccionada del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* hasta que se obtiene una reducción de al menos el 10% del peso inicial de sacarosa en dicha composición; así como al uso combinado o independiente de esta una o más levaduras para el fin indicado anteriormente.

30 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para almacenar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de incubar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición, con al menos una levadura seleccionada del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* hasta que se obtiene una reducción de al menos el 10% del peso inicial de sacarosa en dicha composición; así como al uso combinado o independiente de esta una o más levaduras para el fin indicado anteriormente, y al almacenamiento de dicha composición.

40 En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un método para retirar azúcares, preferiblemente azúcares libres incluyendo sacarosa, más preferiblemente monómeros de hidrato de carbono y/o dímeros de hidrato de carbono, lo más preferiblemente monómeros o dímeros de hexosa y/o pentosa, lo más preferiblemente sacarosa, glucosa y/o fructosa, de una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de incubar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa comprende al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición, con al menos una levadura seleccionada del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* hasta que se obtiene una reducción de al menos el 10% del peso inicial de sacarosa en dicha composición; así como al uso combinado o independiente de esta una o más levaduras para el fin indicado anteriormente.

55 En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un método para reducir la cantidad de azúcares, preferiblemente azúcares libres, más preferiblemente monómeros de hidrato de carbono y/o dímeros de hidrato de carbono, lo más preferiblemente monómeros o dímeros de hexosa y/o pentosa, lo más preferiblemente sacarosa, glucosa y/o fructosa, de una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de incubar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa comprende al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición, con al menos una levadura seleccionada del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* hasta que se obtiene una reducción de al menos el 10% del peso inicial de

sacarosa en dicha composición; así como al uso combinado o independiente de esta una o más levaduras para el fin indicado anteriormente.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un método para eliminar azúcares, preferiblemente azúcares libres, más preferiblemente monómeros de hidrato de carbono y/o dímeros de hidrato de carbono, lo más preferiblemente monómeros o dímeros de hexosa y/o pentosa, lo más preferiblemente sacarosa, glucosa y/o fructosa, de una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de incubar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición, con al menos una levadura seleccionada del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* hasta que se obtiene una reducción de al menos el 10% del peso inicial de sacarosa en dicha composición; así como al uso combinado o independiente de esta una o más levaduras para el fin indicado anteriormente.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un método para fermentar azúcares, preferiblemente azúcares libres, más preferiblemente monómeros de hidrato de carbono y/o dímeros de hidrato de carbono, lo más preferiblemente monómeros o dímeros de hexosa y/o pentosa, lo más preferiblemente sacarosa, glucosa y/o fructosa, de una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que comprende la etapa de incubar una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, en el que dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición, con al menos una levadura seleccionada del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* hasta que se obtiene una reducción de al menos el 10% del peso inicial de sacarosa en dicha composición; así como al uso combinado o independiente de esta una o más levaduras para el fin indicado anteriormente.

Tal como se usa en el presente documento, el término "incubar" o "incubado" se refiere a poner en contacto la levadura tal como se describe en el presente documento con la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, tal como se describe en el presente documento y preferiblemente mantener tal mezcla en condiciones específicas con el fin de promover una reacción particular, en particular fermentación. Ha de entenderse que si se usan levaduras vivas, los parámetros de la incubación se fijan de manera que se garantice la viabilidad de la levadura, al menos durante un tiempo especificado.

Tal como se usa en el presente documento, el término "fructano" se refiere a polímeros de moléculas de fructosa. En los fructanos puede estar presente una unidad de glucosa, en la que estaría en cualquier caso el extremo reductor. La posición de unión de los residuos de fructosa puede determinar el tipo del fructano. La unión puede producirse en uno de los dos hidroxilos primarios (OH-1 u OH-6). El fructano para su uso en la presente invención engloba los dos tipos básicos de fructano simple: inulinas (en las que los residuos de fructosilo se unen generalmente mediante enlaces β -2,1) y levanos (en los que los residuos de fructosilo se unen generalmente mediante enlaces β -2,6). También se engloban en el presente documento fructanos de gramíneas y mixtos que tienen uniones de enlace tanto β -2,1 como β -2,6 entre las unidades de fructosa, y por tanto contienen ramificaciones. En las plantas pueden unirse hasta 1000 unidades de fructosa en una sola molécula de fructano. El fructano para su uso en la presente invención también puede englobar fructanos microbianos que pueden comprender hasta 100.000 unidades de fructosa. El fructano para su uso en la presente invención puede encontrarse en plantas, algas y bacterias. Los fructanos son un tipo de fibra dietética. Los fructanos para su uso en la presente invención pueden obtenerse en la industria principalmente a partir de raíces de achicoria (*Cichorium intybus*) o a partir de la alcachofa de Jerusalén (*Helianthus tuberosus*). Los productos de degradación de inulina son fructooligosacáridos (FOS), es decir la hidrólisis de las inulinas puede producir fructooligosacáridos, que son oligómeros con un DP generalmente por debajo de 20, que también se engloban en el presente documento. Los fructooligosacáridos también pueden sintetizarse enzimáticamente a partir de sacarosa.

Tal como se usa en el presente documento, el término "inulina" se refiere a una mezcla de oligosacáridos y/o polisacáridos de fructosa que pueden tener una glucosa terminal. Las inulinas pertenecen a una clase de fibras conocidas como fructanos. En una realización, la inulina puede representarse, dependiendo de la unidad de hidrato de carbono terminal, por las fórmulas generales GF_n y/o F_m , en las que G representa una unidad de glucosa, F representa una unidad de fructosa, n es un número entero que representa el número de unidades de fructosa unidas a la unidad de glucosa terminal, y m es un número entero que representa el número de unidades de fructosa unidas entre sí en la cadena de hidrato de carbono, preferiblemente en las que n es al menos 2, y m es al menos 2. Las inulinas para su uso en la presente invención engloban inulinas con una glucosa terminal que también se denominan alfa-D-glucopiranosil-[beta-D-fructofuranosil](n-1)-D-fructofuranósidos, así como inulinas sin glucosa que también se denominan beta-D-fructopiranosil-[D-fructofuranosil](n-1)-D-fructofuranósidos. Las inulinas para su uso en la presente invención también pueden englobar inulina ramificada. Las inulinas para su uso en la presente invención también pueden englobar los productos de hidrólisis de inulinas tales como fructooligosacáridos (FOS), también denominados oligofructosas, que son oligómeros de fructosa con un $DP \leq 20$, y también pueden englobar fructooligosacáridos que terminan con una glucosa terminal con un DP de 3-5 sintetizados a partir de sacarosa. Preferiblemente, dichos fructooligosacáridos tienen un DP promedio en número de al menos 3 y como máximo 7.

Las cadenas de sacárido adecuadas de la inulina de origen vegetal para su uso en la invención pueden tener un DP que oscila entre 2 y aproximadamente 100. La inulina puede ser un producto líquido o en polvo.

5 Tal como se usa en el presente documento, el término “grado de polimerización” o “(DP)” se refiere al número de monosacárido residuos presentes en un oligosacárido o polisacárido. A menudo también se usa el parámetro grado de polimerización promedio. El grado de polimerización es una medida de peso molecular (PM). El DP también puede calcularse como la razón del PM total del polímero u oligómero y el PM de las unidades de repetición.

10 El grado de polimerización promedio (DP prom.) de una mezcla (polidispersa) de oligosacáridos o polisacáridos es la media del grado de polimerización (DP) de todas las moléculas presentes en esta mezcla de sacáridos. El grado de polimerización promedio en el presente documento, a menos que se especifique de otro modo, se calcula basándose en el número de moléculas para cada DP: DP_n prom. o grado de polimerización promedio en número tal como se describe a continuación en el presente documento.

15 La determinación de la distribución de masa molecular de la inulina, preferiblemente la muestra de inulina de achicoria, se realiza mediante cromatografía de intercambio aniónico de alto rendimiento acoplada con detección amperométrica de pulsos (HPAEC-PAD) en un sistema cromatográfico Thermo scientific - Dionex ICS 5000. La separación de las diversas longitudes de cadena se logra mediante una columna Carbowax PA100 4 mm *250 mm (+ guard) a 40°C con una velocidad de flujo de 1 ml/min. Se usa hidróxido de sodio 160 mM como eluyente. Un gradiente de acetato de sodio durante la ejecución permite separar las diversas longitudes de cadena.

20 La inulina, preferiblemente los patrones de mezcla de inulina de achicoria a diferentes concentraciones se inyectan con el fin de trazar curvas de calibración y asignar los picos en el cromatograma basándose en el tiempo de retención del patrón. Las curvas de calibración permiten determinar la concentración de cada especie molecular en la muestra.

A partir de la distribución de concentración obtenida, se calcula el grado de polimerización promedio el número $\overline{Dp_n}$ como

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

25 donde N_i es el número de moléculas que tiene el residuo de i y Dp_i el número de residuo.

En una realización, la inulina, preferiblemente inulina de achicoria tal como se describe en el presente documento, tiene un DP promedio en número de al menos 3. En una realización, la inulina, preferiblemente inulina de achicoria tal como se describe en el presente documento, tiene un DP promedio en número de como máximo 500. En una realización, dicha inulina, preferiblemente inulina de achicoria, tiene un DP promedio en número de al menos 3, por ejemplo al menos 5, por ejemplo al menos 7, por ejemplo al menos 10, por ejemplo al menos 15, por ejemplo al menos 20, por ejemplo al menos 25, por ejemplo al menos 70. En una realización, la inulina, preferiblemente inulina de achicoria tal como se describe en el presente documento, tiene un DP promedio en número de al menos 3 y como máximo 500, preferiblemente de al menos 3 y como máximo 100, más preferiblemente de al menos 3 y como máximo 30. En una realización adicional preferida, la inulina, preferiblemente inulina de achicoria tal como se describe en el presente documento, comprende o consiste en fructooligosacáridos (FOS). En una realización adicional preferida, la inulina, preferiblemente inulina de achicoria tal como se describe en el presente documento tiene un DP promedio en número de al menos 3 y como máximo 20, preferiblemente de al menos 3 y como máximo 15, tal como de al menos 3 y como máximo 10. Aún en otra realización preferida, la inulina, preferiblemente inulina de achicoria tal como se describe en el presente documento, comprende o consiste en inulina hidrolizada o parcialmente hidrolizada, preferiblemente inulina de achicoria. La inulina hidrolizada, preferiblemente inulina de achicoria, tal como inulina hidrolizada, puede obtenerse por ejemplo enzimáticamente (por ejemplo mediante inulinasas) o puede obtenerse alternativamente mediante hidrólisis con ácido y/o térmica.

45 En una realización, la inulina, preferiblemente inulina de achicoria, tal como se describe en el presente documento se deriva de o se aísla de plantas, es decir es de origen vegetal, preferiblemente de achicoria (*Cichorium intybus*), pita (*Agave spp.*), banana (*Musa spp.*), bardana (*Arctium lappa*), camasia (*Camassia spp.*), purpúrea (*Echinacea spp.*), *Saussurea Costus lappa*, diente de león (*Taraxacum ruderalia*), helenio (*Inula helenium*), ajo (*Allium sativum*), alcachofa de Jerusalén (*Helianthus tuberosus*), jícama (*Pachyrhizus erosus*), veneno de leopardo (*Arnica montana*), artemisa (*Artemisia vulgaris*), cebolla (*Allium cepa*), ñame (*Dioscorea spp.*), yacón (*Smallanthus sonchifolius spp.*), puerro (*Allium porum*), *Asparagus*, *Scorzonera hispanica*, salsifi (*Tragopogon porrifolius*), trigo (*Triticum aestivum*), 50 dalia (*Dahlia spp.*), lo más preferiblemente de achicoria.

En una realización, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se obtiene mediante extracción con agua caliente. Sin embargo, se extraen conjuntamente azúcares libres (tales como glucosa, fructosa y sacarosa).

Tal como se usa en el presente documento, el término “azúcares libres” se refiere a monosacáridos y/o disacáridos. Pueden estar presentes azúcares libres por ejemplo en plantas, material vegetal u homogeneizados, extractos o aislados vegetales, o material vegetal fraccionado. En una realización preferida, el término “azúcares libres” tal como se usa en el presente documento se refiere a monosacáridos o disacáridos de hexosa o pentosa, preferiblemente monosacáridos o disacáridos de hexosa. Lo más preferiblemente, el término “azúcares libres” engloba fructosa, glucosa y sacarosa. Por consiguiente, en una realización, los azúcares libres comprenden o consisten o consisten esencialmente en fructosa. En otra realización, los azúcares libres comprenden o consisten o consisten esencialmente en glucosa. Aún en otra realización, los azúcares libres comprenden o consisten o consisten esencialmente en sacarosa. En una realización adicional, los azúcares libres comprenden o consisten en fructosa y glucosa. Aún en otra realización, los azúcares libres comprenden o consisten o consisten esencialmente en fructosa y sacarosa. En otra realización, los azúcares libres comprenden o consisten o consisten esencialmente en glucosa y sacarosa. Aún en una realización adicional, los azúcares libres comprenden o consisten o consisten esencialmente en fructosa, glucosa y sacarosa.

En realizaciones, en los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende además uno o más azúcares libres, tal como se definió anteriormente.

Tal como se usa en el presente documento, el término “composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa” se refiere a cualquier tipo de composición que contiene inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa. Tal composición puede ser una composición seca. Preferiblemente, tal composición es una composición líquida, lo más preferiblemente una composición acuosa (es decir una composición que comprende agua y una determinada cantidad de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, disuelta y/o dispersa en ella). Las composiciones pueden obtenerse homogeneizando, por ejemplo, material vegetal. Preferiblemente, las composiciones tal como se describe en el presente documento se refieren a extractos, que están enriquecidos en inulina, preferiblemente inulina de achicoria, en comparación con el material de fuente del que se deriva. La extracción de inulina puede implicar por ejemplo colocar material vegetal en agua caliente, seguido por concentración (por ejemplo evaporación). En una realización, las composiciones que comprenden inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, tal como se describe en el presente documento comprenden al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de la composición, preferiblemente al menos el 40% en peso, preferiblemente al menos el 50% en peso, preferiblemente al menos el 60% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, por ejemplo al menos 30 g de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, por 100 g de materia seca. En una realización, las composiciones que comprenden inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, tal como se describe en el presente documento comprenden al menos el 1,5% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso total de la composición; preferiblemente al menos el 5,0% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria; más preferiblemente al menos el 8,0% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria. En otra realización, las composiciones que comprenden inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, tal como se describe en el presente documento comprenden como máximo el 80% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria; basado en el peso total de la composición. En una realización, las composiciones que comprenden inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, tal como se describe en el presente documento comprenden como máximo el 70% en peso, por ejemplo como máximo el 60% en peso, por ejemplo como máximo el 50% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria; por ejemplo como máximo el 45% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso total de la composición. En una realización preferida, las composiciones que comprenden inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, tal como se describe en el presente documento comprenden al menos el 1,5% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria y como máximo el 80% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, es decir al menos 1,5 g y como máximo 80 g de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, por 100 g de composición. En una realización, las composiciones que comprenden inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, tal como se describe en el presente documento comprenden al menos el 5% en peso y como máximo el 70% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso total de la composición; preferiblemente al menos el 8% en peso y como máximo el 65% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria; más preferiblemente al menos el 8% en peso y como máximo el 50% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria; incluso más preferiblemente al menos el 8% en peso y como máximo el 45% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria.

La composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, tal como extracto rico en inulina, puede obtenerse mediante la extracción con agua caliente de un material vegetal. El material vegetal, por ejemplo raíces de achicoria, en primer lugar se cosecha y luego puede lavarse y si es necesario y se corta en cosetas (tiras o rodajas). La extracción con agua caliente puede realizarse mediante difusión a contracorriente con agua caliente del material vegetal, preferiblemente del material vegetal cortado. La razón típica de material vegetal (por ejemplo, cosetas) con respecto a agua puede ser por ejemplo de 1. La temperatura adecuada puede ser de al menos 50°C, por ejemplo al menos 60°C, por ejemplo al menos 70°C. El tiempo de extracción típico puede variar desde 1 hasta 10 horas. El jugo resultante que contiene inulina, preferiblemente inulina de achicoria en disolución puede filtrarse de manera somera si es necesario con el fin de retirar el material vegetal agotado.

Preferiblemente, la composición de la etapa (a) se obtiene usando un método que comprende las etapas de (i) extracción con agua caliente de un material que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria, (ii) filtración

del extracto con agua caliente; y (iii) desmineralización del filtrado de la etapa (ii) recuperando de ese modo una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa de la etapa (a). En alguna realización, la composición de la etapa (a) se obtiene usando un método que comprende las etapas de (i) extracción con agua caliente de un material que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria, (ii) filtración del extracto con agua caliente; (iii) desmineralización del filtrado de la etapa (ii); y (iv) filtración con carbón activado del filtrado de la etapa (iii) recuperando de ese modo una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa de la etapa (a).

Un ejemplo de la composición que comprende inulina resultante, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, puede tener un contenido típico de materia seca del 13% y comprenden aproximadamente el 77% en peso de inulina basado en la materia seca, y aproximadamente el 9% en peso de azúcares libres (incluyendo sacarosa).

Las levaduras que pueden usarse en los métodos tal como se describe en el presente documento se seleccionan del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*; preferiblemente, las levaduras se seleccionan del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus*; *Saccharomyces cerevisiae*; *Kluyveromyces lactis* y *Saccharomyces boulardii* o se seleccionan del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus*; *Kluyveromyces lactis* y *Saccharomyces boulardii*, o se seleccionan del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus* y *Saccharomyces boulardii*; aún más preferiblemente, las levaduras se seleccionan del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, (por ejemplo *S. bayanus* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve) o MUCL 31491 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* (por ejemplo, *S. bayanus* MUCL 31495 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* BC S103 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces bayanus* VR 44 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces cerevisiae* (por ejemplo *S. cerevisiae* w-34/70 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces boulardii* (obtenida de Enterol®, biocodex gamma) y *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum*, (por ejemplo *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum* CBS 2103 (obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL). En una realización preferida, la levadura es *Saccharomyces bayanus*, preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* o *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus*, preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve); *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve) o *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), lo más preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve). En particular, *Saccharomyces bayanus* parece ser muy versátil en relación con las condiciones de incubación, porque funciona muy bien en un intervalo de condiciones muy amplio.

En algunas realizaciones, en los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, comprende además uno o más azúcares libres adicionales (incluyendo sacarosa), tal como se definió anteriormente en una cantidad de al menos el 1% en peso, preferiblemente al menos 3% en peso, basado en el peso total de la materia seca de la composición, y por ejemplo como máximo el 70% en peso de azúcares libres (incluyendo la sacarosa). Más preferiblemente, al menos el 1% en peso y como máximo el 60% en peso de azúcares libres (incluyendo sacarosa), basado en la materia seca, más preferiblemente al menos 3% en peso y como máximo el 50% en peso, basado en la materia seca. Tal como se usa en el presente documento, el término "basado en la materia seca" se refiere al % en peso de un componente respectivo en el contenido de materia seca de la composición (por ejemplo el 1% en peso basado en la materia seca se refiere a 1 g por 100 g materia seca).

La materia seca total puede determinarse gravimétricamente como el residuo que queda tras el secado. Normalmente la humedad se evapora de la muestra mediante secado en horno. Normalmente se pesan 5 g de muestra en una cubeta de aluminio seca pesada previamente (balanza de precisión Ohaus, capacidad 410 g, sensibilidad 0,001 g). La muestra se coloca en un horno a 103°C hasta que el peso residual permanece constante (al menos 24 h). La muestra se enfría en un desecador durante 1 h y luego se pesa inmediatamente. Los resultados se expresan en % (g de materia seca por 100 g de muestra).

$$\text{Materia seca (\%)} = (m3 - m1)/(m2 - m1) \times 100$$

m1 = peso de la cubeta de aluminio seca (en g)

m2 = peso de la cubeta de aluminio con la muestra antes del secado (en g)

m3 = peso de la cubeta de aluminio con la muestra tras el secado (en g)

Preferiblemente, las composiciones que comprenden inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa comprenden al menos el 1,5% en peso inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso total de la composición. Preferiblemente, estas composiciones comprenden como máximo el 80% en peso inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso total de la composición. Preferiblemente, estas composiciones comprenden al menos el 1,5% en peso y como máximo el 75% en peso inulina, preferiblemente inulina de achicoria, tal como se indicó anteriormente.

En la tabla 1 a continuación se representan las realizaciones adicionales preferidas que ilustran las cantidades de

azúcares libres basadas en el peso seco de la composición, al comienzo de la etapa de incubación, en particular de fructosa, glucosa y sacarosa que pueden estar presentes en las composiciones que comprenden inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa tal como se describe en el presente documento.

Tabla 1

Realización	sacarosa	fructosa	glucosa
1.	≥ 1% en peso		
2.	≥ 1,5% en peso		
3.	1-10% en peso		
4.	1,5-8% en peso		
5.	≥ 1% en peso	≥ 1% en peso	
6.	≥ 1,5% en peso	1-10% en peso	
7.	1-10% en peso	≥ 1% en peso	
8.	1-10% en peso	1-10% en peso	
9.	1,5-8% en peso	1-10% en peso	
10.	≥ 1% en peso	≥ 1% en peso	≥ 0,5% en peso
11.	≥ 1,5% en peso	≥ 1% en peso	≥ 0,5% en peso
12.	1-10% en peso	1-10% en peso	0,5-3% en peso
13.	1,5-8% en peso	1-10% en peso	0,5-3% en peso
14.	≥ 1% en peso	≥ 1% en peso	0,5-3% en peso
15.	1-10% en peso	1-10% en peso	≥ 0,5% en peso
16.	≥ 1% en peso	≥ 1% en peso	
17.	1-10% en peso	1-10% en peso	
18.	≥ 1% en peso	≥ 1% en peso	
19.	1-10% en peso	1-10% en peso	
20.	≥ 1,5% en peso		≥ 0,5% en peso
21.	1,5-8% en peso		0,5-3% en peso
22.	1,5-8% en peso		≥ 0,5% en peso
23.	≥ 1,5% en peso		0,5-3% en peso
24.	≥ 1,5% en peso	≥ 1% en peso	≥ 0,5% en peso
25.	1,5-8% en peso	1-10% en peso	0,5-3% en peso
26.	≥ 1,5% en peso	≥ 1% en peso	0,5-3% en peso
27.	1,5-8% en peso	1-10% en peso	≥ 0,5% en peso
28.	1,5-8% en peso	≥ 1% en peso	0,5-3% en peso
29.	≥ 1,5% en peso	1-10% en peso	≥ 0,5% en peso
30.	1,5-8% en peso	≥ 1% en peso	≥ 0,5% en peso
31.	≥ 1,5% en peso	1-10% en peso	0,5-3% en peso

- 5 En una realización, en las composiciones que comprenden inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, tal como se describe en el presente documento, la razón en peso basada en el peso seco de sacarosa y otros azúcares libres, al comienzo de la incubación, preferiblemente la razón en peso basada en el peso seco de sacarosa y una o más de fructosa y glucosa, preferiblemente todas, con respecto a inulina, preferiblemente inulina de achicoria, es de al menos 1:100 y como máximo 2,3:1, más preferiblemente al menos 1:50 y como máximo 2:1.
- 10 En realizaciones adicionales, en las composiciones que comprenden inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, y sacarosa tal como se describe en el presente documento, la razón en peso de azúcares libres, preferiblemente las realizaciones tal como se describe en la tabla 1, con respecto a inulina, preferiblemente inulina de achicoria, es de al menos 1:10 y como máximo 1,5:1, más preferiblemente al menos 1:5 y como máximo 1:1.
- 15 En algunas realizaciones opcionales, antes y/o durante la etapa (b) puede añadirse una fuente de nitrógeno a dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa. La fuente de nitrógeno puede ser una fuente de nitrógeno orgánica (por ejemplo peptona) y/o inorgánica (por ejemplo nitrato). En una realización, la fuente de nitrógeno puede proporcionarse como una composición que comprende aditivos adicionales, tales como nutrientes adicionales, minerales, etc. En una realización preferida, la fuente de nitrógeno es extracto de levadura.
- 20 En una realización, la cantidad de fuente de nitrógeno es de al menos el 0,01% en peso, expresado como equivalente de amonio, y por ejemplo como máximo el 1% en peso (basado en el peso total de la composición), preferiblemente al menos el 0,03% en peso y como máximo el 1,0% en peso, más preferiblemente al menos el 0,05% en peso y como máximo el 1,0% en peso.
- 25 En algunas realizaciones opcionales, cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento puede comprender además la etapa de airear la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, preferiblemente tras la adición de la levadura tal como se define en el presente documento, al comienzo de la incubación, y/o durante la incubación con la levadura tal como se define en el presente documento. Ha de entenderse que el término "aireación" en el presente contexto se refiere a un procedimiento mediante el cual

un gas que contiene oxígeno, preferiblemente aire, se hace circular a través de, se mezcla con o se disuelve en la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, tal como se define en el presente documento. A modo de guía adicional, y sin limitación, la aireación puede llevarse a cabo haciendo pasar aire a través del líquido por medio de un tubo Venturi, turbinas de aireación o aire comprimido que puede combinarse con piedra(s) difusora(s) de aire, así como difusores de burbuja fina, difusores de burbuja gruesa o tubos de aireación lineales. Las velocidades de aireación preferidas son de al menos 0,01 vvm y como máximo 1 vvm (flujo de volumen de gas por unidad de volumen de líquido por minuto), preferiblemente al menos 0,05 vvm y como máximo 1,0 vvm. En una realización, cuando la levadura es *Saccharomyces*, tal como *Saccharomyces bayanus*, no se proporciona aireación. En otra realización, cuando la levadura es *Kluyveromyces* tal como *Kluyveromyces lactis*, se proporciona aireación.

En realizaciones, cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento puede comprender además la etapa de agitar la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, preferiblemente tras la adición de la levadura tal como se define en el presente documento y/o durante la incubación con la levadura tal como se define en el presente documento. Ha de entenderse que el término “agitar” en el presente contexto se refiere a un procedimiento mediante el cual la composición tal como se define en el presente documento se pone en movimiento y por tanto se mezcla. A modo de guía adicional, la agitación puede efectuarse mediante removido, zarandeo, rotación o bombeo del líquido alrededor. Por ejemplo puede usarse un agitador magnético o una varilla de agitación para efectuar la agitación.

En realizaciones adicionales, cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento puede comprender además la etapa de airear y agitar la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, preferiblemente tras la adición de la levadura tal como se define en el presente documento y/o durante la incubación con la levadura tal como se define en el presente documento, en el que la aireación y la agitación son tal como se definió anteriormente. Ha de entenderse que la aireación puede englobar agitación y viceversa. Por ejemplo, la introducción de aire en la composición puede poner la composición en movimiento y por tanto efectuar agitación. A la inversa, por ejemplo, la agitación por medio de un impulsor puede introducir simultáneamente aire en la composición.

En realizaciones adicionales, cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento puede comprender además la etapa de retirar la levadura tras la etapa de incubación, preferiblemente tras un tiempo especificado tal como se define en otro lugar en el presente documento, tal como también se indica por ejemplo en la tabla 2. La retirada de la levadura de las composiciones tras la incubación tal como se define en el presente documento se conoce bien en la técnica. Sin limitación, la retirada de la levadura puede efectuarse por ejemplo mediante centrifugación, decantación y/o filtración.

En algunas realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la al menos una levadura tal como se define en el presente documento, a una temperatura por encima del punto de congelación de dicha composición, preferiblemente a una temperatura que es óptima para la levadura respectiva, preferiblemente a una temperatura de 10°C por encima o por debajo de la temperatura que es óptima para la levadura respectiva. Se conocen en la técnica temperaturas óptimas para las levaduras tal como se define en el presente documento. A modo de guía adicional, y sin limitación, la temperatura óptima tal como se define en el presente documento se refiere a la temperatura a la que se maximiza el crecimiento. En una realización preferida, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la levadura tal como se define en el presente documento se incuba con la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, a una temperatura de al menos -5°C. En una realización preferida, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la levadura tal como se define en el presente documento se incuba con la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, a una temperatura de como máximo 40°C. En una realización preferida, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la levadura tal como se define en el presente documento se incuba con la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, a una temperatura de al menos -5°C y como máximo 40°C, más preferiblemente a una temperatura de al menos 2°C y como máximo 35°C. En una realización adicional preferida, la incubación se realiza a una temperatura de al menos 15°C y como máximo 35°C, tal como al menos 20°C y como máximo 30°C, por ejemplo 30°C o aproximadamente 30°C. Aún en otra realización preferida, la incubación se realiza a una temperatura de al menos -5°C y como máximo 15°C, tal como al menos 4°C y como máximo 10°C.

En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la al menos una levadura tal como se define en el presente documento a una temperatura de menos de 35°C, preferiblemente menos de 32°C, más preferiblemente menos de 24°C. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la al menos una levadura tal como se define en el presente documento a una temperatura de menos de 35°C, preferiblemente menos de 32°C, más preferiblemente menos de 24°C, y de más de -5°C, preferiblemente más de 2°C. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con *Kluyveromyces*; preferiblemente *Kluyveromyces lactis*, más preferiblemente *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilorum*, por ejemplo

5 *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum* CBS 2103 (por ejemplo obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL), a una temperatura de menos de 35°C, preferiblemente menos de 32°C, más preferiblemente menos de 24°C. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la al menos una levadura tal como se define en el presente documento a una temperatura de menos de 35°C, preferiblemente menos de 32°C, más preferiblemente menos de 24°C, y de más de -5°C, preferiblemente más de 2°C. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con *Kluyveromyces*; preferiblemente *Kluyveromyces lactis*, más preferiblemente *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum*, (por ejemplo *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum* CBS 2103 (por ejemplo obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL) a una temperatura de menos de 35°C, preferiblemente menos de 32°C, más preferiblemente menos de 24°C, y de más de -5°C, preferiblemente más de 2°C.

15 En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con al menos una levadura tal como se define en el presente documento durante al menos 5 horas, tal como durante al menos 10 horas, al menos 15 horas; al menos 50 horas, por ejemplo al menos 75 horas; al menos 4 días (es decir 4 x 24 horas), tal como al menos 10 días; al menos 30 días, por ejemplo al menos 60 días, o al menos 90 días, o al menos 120 días. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento durante como máximo 12 meses, por ejemplo durante como máximo 6 meses, por ejemplo como máximo 4 meses, tal como como máximo 180 días, por ejemplo como máximo 150 días, tal como como máximo 30 días (es decir 30 x 24 horas), tal como como máximo 20 días; como máximo 150 horas, como máximo 125 horas; como máximo 50 horas, por ejemplo como máximo 30 horas, o como máximo 25 horas. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento durante al menos 5 horas y como máximo 12 meses, preferiblemente durante al menos 5 horas y como máximo 6 meses, tal como al menos 5 horas y como máximo 4 meses, por ejemplo al menos 10 horas y como máximo 30 horas o al menos 15 horas y como máximo 25 horas; al menos 50 horas y como máximo 150 horas, por ejemplo al menos 75 horas y como máximo 125 horas; al menos 4 días (es decir 4 x 24 horas) y como máximo 30 días (es decir 30 x 24 horas), tal como al menos 10 y como máximo 20 días; al menos 30 días y como máximo 180 días, por ejemplo al menos 60 días y 150 días, o al menos 90 días y como máximo 180 días, o al menos 120 y como máximo 150 días.

35 En la tabla 2 se ilustran combinaciones preferidas de temperatura y tiempo de incubación de las composiciones que comprenden inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, con la al menos una levadura tal como se describe en el presente documento.

Tabla 2

Realización	Temperatura (°C)	Tiempo
1a	de -5 a 10	≥ 8 días por ejemplo 8 días-12 meses
2a	de 4 a 12	≥ 5 días por ejemplo 5 días-12 meses
3a	de 6 a 16	≥ 3 días por ejemplo 3 días-6 meses
4a	de 8 a 20	≥ 1 día por ejemplo 1 día -60 días
5a	de 15 a 20	≥ 1 día por ejemplo 1-15 días
6a	de 17 a 25	≥ 5 horas por ejemplo 5 horas - 10 días
7a	de 20 a 30	≥ 5 horas por ejemplo 5 horas - 7 días
8a	de 25 a 35	≥ 5 horas por ejemplo 5 horas - 5 días
9a	de 30 a 35	≥ 5 horas por ejemplo 5 horas - 5 días
10a	de -5 a 35	≥ 5 horas por ejemplo 5 horas - 12 meses
11a	de -5 to 32	≥ 5 horas por ejemplo 5 horas - 12 meses
12a	de 2 a 35	≥ 5 horas por ejemplo 5 horas - 12 meses

13a	de 2 a 32	≥ 5 horas por ejemplo 5 horas - 12 meses
14a	de -5 a 24	≥ 5 horas por ejemplo 5 horas - 12 meses
15a	de 2 a 24	≥ 5 horas por ejemplo 5 horas - 12 meses
16a	de 17 a 24	≥ 5 horas por ejemplo 5 horas - 10 días

El experto entenderá que las realizaciones anteriores pueden combinarse. Por ejemplo, la composición puede incubarse a una temperatura de al menos 4°C y como máximo 25°C, por ejemplo durante de al menos 5 horas a como máximo 12 meses, por lo que, en algunas realizaciones, si la temperatura de incubación es de entre 4°C y 12°C, la composición puede incubarse durante al menos 5 días, tal como durante al menos 5 días y como máximo 12 meses; en algunas realizaciones, si la temperatura de incubación es de al menos 6°C a como máximo 16°C, la composición puede incubarse durante al menos 3 días, tal como durante al menos 3 días y como máximo 6 meses; en algunas realizaciones, si la temperatura de incubación es de al menos 8°C a como máximo 20°C, la composición puede incubarse durante al menos 1 día, tal como durante al menos 1 día y como máximo 60 días; en algunas realizaciones si la temperatura de incubación es de al menos 15°C a como máximo 20°C, la composición puede incubarse durante al menos 1 día, tal como al menos 1 día y como máximo 15 días; y en algunas realizaciones, si la temperatura es de al menos 17°C a como máximo 25°C, la composición puede incubarse durante al menos 5 horas, tal como durante al menos 5 horas y como máximo 10 días.

En las realizaciones 1a-16a anteriores, las levaduras pueden seleccionarse del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*; preferiblemente, las levaduras se seleccionan del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus*; *Saccharomyces cerevisiae*; *Kluyveromyces lactis* y *Saccharomyces boulardii*, o se seleccionan del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus*; *Kluyveromyces lactis* y *Saccharomyces boulardii*, o se seleccionan del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus* y *Saccharomyces boulardii*; aún más preferiblemente las levaduras se seleccionan del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, (por ejemplo *S. bayanus* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve) o MUCL 31491 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* (por ejemplo, *S. bayanus* MUCL 31495 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* BC S103 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces bayanus* VR 44 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces cerevisiae* (por ejemplo *S. cerevisiae* w-34/70 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces boulardii* (obtenida de Enterol®, biocodex gamma) y *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilarum*, (por ejemplo *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilarum* CBS 2103 (obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL). En una realización preferida, la levadura es *Saccharomyces bayanus*, preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* o *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus*, preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve); *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), o *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), lo más preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve). En particular, *Saccharomyces bayanus* parece ser muy versátil en relación con las condiciones de incubación, porque funciona muy bien en una amplia variedad de condiciones. Las realizaciones 10a-13a anteriores son particularmente adecuadas para su uso con *Kluyveromyces*, preferiblemente *Kluyveromyces lactis*, más preferiblemente *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilarum*, por ejemplo *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilarum* CBS 2103, por ejemplo obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL.

En realizaciones adicionales, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento durante un tiempo suficiente para reducir uno o más del peso total inicial de azúcares libres (incluyendo sacarosa) y la concentración (basada en el peso seco) en al menos el 10%. Esta reducción puede lograrse mediante el uso de una o más etapas de incubación. Preferiblemente, dicha composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa se incuba con dicha al menos una levadura hasta que se logra una reducción de al menos el 20% del peso inicial de azúcares libres (incluyendo sacarosa) en dicha composición, por ejemplo al menos el 30%, por ejemplo al menos el 40%, por ejemplo al menos el 50%; por ejemplo en al menos el 60%, por ejemplo en al menos el 70%, por ejemplo en al menos el 80%, preferiblemente al menos el 90%, preferiblemente al menos el 95%, por ejemplo al menos el 98%, por ejemplo una reducción de al menos el 99%. En realizaciones adicionales, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento durante un tiempo suficiente para reducir la concentración de fructosa (basada en el peso seco) en al menos el 10%, por ejemplo al menos el 20%, por ejemplo al menos el 30%, por ejemplo al menos el 40%, por ejemplo al menos el 50%; por ejemplo en al menos el 60%, por ejemplo en al menos el 70%, por ejemplo en al menos el 80%, preferiblemente al menos el 90%, preferiblemente al menos el 95%, por ejemplo al menos el 98%, por ejemplo una reducción de al menos el 99%. En realizaciones adicionales, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente

documento durante un tiempo suficiente para reducir la concentración de glucosa (basada en el peso seco) en al menos el 10%, por ejemplo al menos el 20%, por ejemplo al menos el 30%, por ejemplo al menos el 40%, por ejemplo al menos el 50%; por ejemplo en al menos el 60%, por ejemplo en al menos el 70%, por ejemplo en al menos el 80%, preferiblemente al menos el 90%, preferiblemente al menos el 95%, por ejemplo al menos el 98%, por ejemplo una reducción de al menos el 99%. En realizaciones adicionales, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento durante un tiempo suficiente para reducir la concentración de sacarosa (basada en el peso seco) en al menos el 10%, por ejemplo al menos el 20%, por ejemplo al menos el 30%, por ejemplo al menos el 40%, por ejemplo al menos el 50%; por ejemplo en al menos el 60%, por ejemplo en al menos el 70%, por ejemplo en al menos el 80%, preferiblemente al menos el 90%, preferiblemente al menos el 95%, por ejemplo al menos el 98%, por ejemplo una reducción de al menos el 99%. En realizaciones adicionales, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento durante un tiempo suficiente para reducir la concentración de fructosa y glucosa combinadas (basada en el peso seco) en al menos el 10%, por ejemplo al menos el 20%, por ejemplo al menos el 30%, por ejemplo al menos el 40%, por ejemplo al menos el 50%; por ejemplo en al menos el 60%, por ejemplo en al menos el 70%, por ejemplo en al menos el 80%, preferiblemente al menos el 90%, preferiblemente al menos el 95%, por ejemplo al menos el 98%, por ejemplo una reducción de al menos el 99% en peso. En realizaciones adicionales, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento durante un tiempo suficiente para reducir la concentración de fructosa y sacarosa combinadas (basada en el peso seco) en al menos el 10%, por ejemplo al menos el 20%, por ejemplo al menos el 30%, por ejemplo al menos el 40%, por ejemplo al menos el 50%; por ejemplo en al menos el 60%, por ejemplo en al menos el 70%, por ejemplo en al menos el 80%, preferiblemente al menos el 90%, preferiblemente al menos el 95%, por ejemplo al menos el 98%, por ejemplo una reducción de al menos el 99%. En realizaciones adicionales, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento durante un tiempo suficiente para reducir la concentración de glucosa y sacarosa combinadas (basada en el peso seco) en al menos el 10%, por ejemplo al menos el 20%, por ejemplo al menos el 30%, por ejemplo al menos el 40%, por ejemplo al menos el 50%; por ejemplo en al menos el 60%, por ejemplo en al menos el 70%, por ejemplo en al menos el 80%, preferiblemente al menos el 90%, preferiblemente al menos el 95%, por ejemplo al menos el 98%, por ejemplo una reducción de al menos el 99%. En realizaciones adicionales, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento durante un tiempo suficiente para reducir la concentración de fructosa, glucosa y sacarosa combinadas (basada en el peso seco) en al menos el 10%, por ejemplo al menos el 20%, por ejemplo al menos el 30%, por ejemplo al menos el 40%, por ejemplo al menos el 50%; por ejemplo en al menos el 60%, por ejemplo en al menos el 70%, por ejemplo en al menos el 80%, preferiblemente al menos el 90%, preferiblemente al menos el 95%, por ejemplo al menos el 98%, por ejemplo una reducción de al menos el 99%. Los tiempos necesarios para alcanzar las concentraciones fijadas de azúcar libre (incluyendo sacarosa) pueden determinarse empíricamente, tal como se conoce en la técnica.

En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento a un pH de al menos 2,5, preferiblemente al menos 3,0. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, la levadura tal como se define en el presente documento se incuba con la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, a un pH de al menos 2,5, por ejemplo al menos 3,0, por ejemplo al menos 3,5, por ejemplo al menos 4,0 por ejemplo al menos 5,0. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento a un pH de como máximo 8,5, preferiblemente como máximo 7,5. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, la levadura tal como se define en el presente documento se incuba con la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, a un pH de como máximo 8,0, por ejemplo como máximo 7,5, por ejemplo como máximo 7,0, por ejemplo como máximo 6,5, por ejemplo como máximo 6,0. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento a un pH de al menos 2,5 y como máximo 8,0, preferiblemente al menos 3,0 y como máximo 7,5. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, preferiblemente inulina y sacarosa, la levadura tal como se define en el presente documento se incuba con la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, a un pH de al menos 4 y como máximo 7,0, por ejemplo al menos 4,5 y como máximo 6,0, por ejemplo al menos 5 y como máximo 7,0, por ejemplo al menos 5,5 y como máximo 7,0. El pH puede fijarse y mantenerse tal como se conoce en la técnica.

En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento a un pH de al menos 4,7, preferiblemente un pH de al menos 5,7. En algunas realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento a un pH de al menos 4,7, preferiblemente un pH de al menos 5,7, y un pH de como máximo 8,0, preferiblemente un pH de como máximo 7,0. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con *Kluyveromyces*; preferiblemente *Kluyveromyces lactis*, más preferiblemente *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum*, por ejemplo *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum* CBS 2103 (por ejemplo obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL), preferiblemente a un pH de al menos 4,7, preferiblemente un pH de al menos 5,7. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con *Kluyveromyces*; preferiblemente *Kluyveromyces lactis*, más preferiblemente *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum*, (por ejemplo *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum* CBS 2103, por ejemplo obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL, preferiblemente a un pH de al menos 4,7, preferiblemente a un pH de al menos 5,7, y un pH de como máximo 8,0, preferiblemente un pH de como máximo 7,0.

En algunas realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento a un pH de al menos 4,7, preferiblemente un pH de al menos 5,7, y una temperatura por debajo de 35°C, preferiblemente por debajo de 32°C, más preferiblemente por debajo de 24°C. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento a un pH de al menos 4,7, preferiblemente un pH de al menos 5,7, y un pH de como máximo 8,0, preferiblemente un pH de como máximo 7,0, y una temperatura de como máximo 35°C, preferiblemente como máximo 32°C, más preferiblemente como máximo 24°C, y una temperatura de al menos -5°C, preferiblemente al menos 2°C. En algunas realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con *Kluyveromyces*; preferiblemente *Kluyveromyces lactis*, más preferiblemente *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum*, por ejemplo *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum* CBS 2103, por ejemplo obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL, a un pH de al menos 4,7, preferiblemente un pH de al menos 5,7, y una temperatura de como máximo 35°C, preferiblemente como máximo 32°C, más preferiblemente como máximo 24°C. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con *Kluyveromyces*; preferiblemente *Kluyveromyces lactis*, más preferiblemente *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum*, por ejemplo *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum* CBS 2103, por ejemplo obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL, a un pH de al menos 4,7, preferiblemente un pH de al menos 5,7, y un pH de como máximo 8,0, preferiblemente un pH de como máximo 7,0, y una temperatura de como máximo 35°C, preferiblemente como máximo 32°C, más preferiblemente como máximo 24°C y una temperatura de al menos -5°C, preferiblemente al menos 2°C.

En algunas realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento a un pH de al menos 2,5. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento a un pH de al menos 2,5, y un pH de como máximo 7,0, preferiblemente un pH de como máximo 5,0. En algunas realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con *Saccharomyces*; preferiblemente *Saccharomyces bayanus*, más preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, (por ejemplo *S. bayanus* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve) o MUCL 31491 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* (por ejemplo, *S. bayanus* MUCL 31495 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* BC S103 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces bayanus* VR 44 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre) a un pH de al menos 2,5. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con *Saccharomyces*; preferiblemente *Saccharomyces bayanus*, más preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, (por ejemplo *S. bayanus* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve) o MUCL 31491 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* (por ejemplo, *S. bayanus* MUCL 31495 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* BC S103 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces bayanus* VR 44 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre) a un pH de al menos 2,5, y un pH de como máximo 7,0, preferiblemente un pH de como máximo 5,0.

En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en

el presente documento a un pH de al menos 2,5, y una temperatura de como máximo 35°C, preferiblemente de como máximo 32°C, más preferiblemente de como máximo 24°C. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento a un pH de al menos 2,5, y un pH de como máximo 7,0, preferiblemente un pH de como máximo 5,0, y una temperatura de como máximo 35°C, preferiblemente de como máximo 32°C, más preferiblemente de como máximo 24°C, y una temperatura de al menos -5°C, preferiblemente de como máximo 2°C. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con *Saccharomyces*; preferiblemente *Saccharomyces bayanus*, más preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, (por ejemplo *S. bayanus* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve) o MUCL 31491 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* (por ejemplo, *S. bayanus* MUCL 31495 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* BC S103 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces bayanus* VR 44 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre) a un pH de al menos 2,5, y una temperatura de como máximo 35°C, preferiblemente de como máximo 32°C, más preferiblemente de como máximo 24°C. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con *Saccharomyces*; preferiblemente *Saccharomyces bayanus*, más preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, (por ejemplo *S. bayanus* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve) o MUCL 31491 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* (por ejemplo, *S. bayanus* MUCL 31495 (obtenida de BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* BC S103 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces bayanus* VR 44 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre) a un pH de al menos 2,5, y un pH de como máximo 7,0, preferiblemente un pH de como máximo 5,0, y una temperatura de como máximo 35°C, preferiblemente de como máximo 32°C, más preferiblemente como máximo 24°C y una temperatura de al menos -5°C, preferiblemente al menos 2°C.

En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento, en el que se añaden al menos 10^3 UFC de levadura al comienzo de la incubación por ml de composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento, en el que se añaden como máximo 10^{10} UFC de levadura al comienzo de la incubación por ml de composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa. En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento, en el que se añaden al menos 10^3 UFC y como máximo 10^{10} unidades formadoras de colonias, UFC, de levadura al comienzo de la incubación por ml de composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa. Las unidades formadoras de colonias se conocen bien en la técnica y pueden determinarse, por ejemplo, mediante recuento en placa. Por ejemplo, pueden añadirse a las composiciones tal como se define en el presente documento al menos 10^3 UFC/ml y como máximo 10^9 UFC/ml, por ejemplo al menos 10^4 UFC/ml y como máximo 10^9 UFC/ml, por ejemplo al menos 10^5 UFC/ml y como máximo 10^9 UFC/ml, por ejemplo al menos 10^4 UFC/ml y como máximo 10^8 UFC/ml, por ejemplo al menos 10^5 UFC/ml y como máximo 10^8 C/ml. Ventajosamente, las concentraciones de levadura anteriores pueden combinarse con las realizaciones de tiempo y temperatura específicos, tal como se describe en la tabla 2, o con los tiempos y temperaturas específicos tal como se describió anteriormente.

En realizaciones, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, se incuba con la levadura tal como se define en el presente documento, en el que la levadura se proporciona como lisados de levadura o un extracto de la levadura, tal como un extracto de proteína o enzima. Ha de entenderse que para determinar la cantidad de tales lisados o extracto, han de incubarse las cantidades correspondientes como la cantidad de UFC/ml tal como se describió anteriormente con las composiciones.

En la realización más preferida, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición es una composición líquida que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, que se incuba con *Saccharomyces*, preferiblemente *Saccharomyces bayanus*, preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, en el que la composición comprende al menos el 1% en peso y como máximo el 70% en peso (basado en la materia seca) de sacarosa y otros azúcares libres (incluyendo sacarosa), preferiblemente al menos el 1% en peso y como máximo el 70% en peso (basado en la materia seca) de sacarosa y una o más de fructosa y glucosa, preferiblemente una mezcla de todas ellas, basado en el peso total de la materia seca de la composición.

Adicionalmente, en la realización más preferida, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición es una composición líquida que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, lo más preferiblemente que comprende al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de la composición, y preferiblemente que comprende al menos el 1% en peso y como máximo el 75% en peso (basado en la materia seca) de sacarosa y opcionalmente otros azúcares libres (incluyendo sacarosa), más preferiblemente comprende al menos el 1% en peso y como máximo el

75% en peso (basado en la materia seca) de sacarosa y una o más de fructosa y glucosa, preferiblemente una mezcla de todas ellas. Preferiblemente, la composición se incubaba con *Saccharomyces bayanus*, preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, a una temperatura de al menos -5°C y como máximo 40°C, preferiblemente a una temperatura de al menos 0,0°C y como máximo 35°C.

5 Adicionalmente, en la realización más preferida, en cada uno de los métodos tal como se describe en el presente documento, la composición es una composición líquida que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, lo más preferiblemente al menos el 30% en peso y como máximo el 99% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de la composición, incubándose dicha composición con *Saccharomyces bayanus*, preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, en el que la
10 composición comprende al menos el 1% en peso y como máximo el 75% en peso (basado en la materia seca) de sacarosa y opcionalmente otros azúcares libres, preferiblemente sacarosa y una o más de fructosa y glucosa, preferiblemente una mezcla de todas ellas, en el que dicha composición se incubaba a una temperatura de al menos -5°C y como máximo 40°C, preferiblemente a una temperatura de al menos 0,0°C y como máximo 35°C.

15 En un aspecto, la invención también se refiere a una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, y al menos una levadura seleccionada del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus* (preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*), *Kluyveromyces lactis* (preferiblemente *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum*, lo más preferiblemente *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum* CBS 2103 (obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL). En una realización preferida, la levadura es *Saccharomyces bayanus*, preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*. Las
20 realizaciones descritas anteriormente en relación con la inulina, preferiblemente composiciones de inulina de achicoria (en particular relativas al tipo, la cantidad, el origen, la composición, el DP, así como las realizaciones relativas a los azúcares libres, sus tipos y cantidades) se aplican por igual a las composiciones de este aspecto.

25 En un aspecto adicional, la invención se refiere a una levadura depositada en las Colecciones Coordinadas Belgas de Microorganismos (BCCM) con el número de registro MUCL 55125. Ha de entenderse que esta levadura es la más preferida en las composiciones, métodos y usos según la invención tal como se describe en otro lugar en el presente documento.

30 La presente invención también engloba una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria, sacarosa y al menos una levadura seleccionada del grupo que consiste en *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Kluyveromyces lactis*, en la que dicha composición comprende al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia seca total de dicha composición.

35 Aún en otro aspecto, la invención se refiere al uso de una levadura para retirar, reducir o eliminar azúcares, preferiblemente azúcares libres, más preferiblemente monómeros de hidrato de carbono y/o dímeros de hidrato de carbono, lo más preferiblemente monómeros o dímeros de hexosa y/o pentosa de una composición que comprende inulina, preferiblemente inulina de achicoria y sacarosa, en el que dicha levadura se selecciona del grupo que
40 comprende o que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*; preferiblemente se selecciona del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus*; *Saccharomyces cerevisiae*; *Kluyveromyces lactis*; *Saccharomyces boulardii*, o se seleccionan del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus*; *Kluyveromyces lactis* y *Saccharomyces boulardii*, o se seleccionan del grupo que comprende o que consiste en *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, (por ejemplo *Saccharomyces bayanus* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve) o MUCL 31491 (obtenida en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* (por ejemplo, *S. bayanus* MUCL 31495 (obtenida en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces cerevisiae* (por ejemplo *S. cerevisiae* w-34/70 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre), *Saccharomyces boulardii* (obtenida de Enteral®, biocodex gama) y *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum*, (lo más preferiblemente *Kluyveromyces lactis* var. *drosophilum* CBS 2103 (obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL); aún más preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*, (por ejemplo *Saccharomyces bayanus* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve) o MUCL 31491 (obtenida en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* (por ejemplo, *S. bayanus* MUCL 31495 (obtenida en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve), *Saccharomyces cerevisiae* (por ejemplo *S. cerevisiae* w-34/70 (obtenida de Fermentis, grupo Lesaffre),
45 *Saccharomyces boulardii* (obtenida de Enteral®, biocodex gama); aún más preferiblemente *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (depositada en BCCM/MUCL Louvain-La-Neuve). Preferiblemente, los azúcares libres se seleccionan de uno o más de fructosa, glucosa y sacarosa, preferiblemente de todas ellas. Las realizaciones descritas anteriormente en relación con la inulina, preferiblemente composiciones de inulina de achicoria (en particular relativas al tipo, la cantidad, el origen, la composición, el DP (promedio), así como las realizaciones
50 relativas a los azúcares libres, sus tipos y cantidades), así como al tiempo y la temperatura de incubación se aplican por igual a las composiciones de este aspecto.

55 La presente invención también engloba el uso de una levadura seleccionada del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* para reducir la cantidad de sacarosa en una composición que comprende sacarosa y al menos el 30% en peso de inulina, preferiblemente inulina de achicoria, basado en el peso de materia
60 seca total de dicha composición.

Los aspectos y realizaciones de la invención quedan respaldadas adicionalmente por los siguientes ejemplos no limitativos.

Ejemplos

Protocolo

5 Medición de materia seca

Se determinó la materia seca total gravimétricamente como el residuo que permanecía tras el secado. La humedad se evaporó de la muestra mediante secado en horno.

10 Se pesaron 5 g de muestra en una cubeta de aluminio seca pesada previamente (balanza de precisión Ohaus, capacidad 410 g, sensibilidad 0,001 g). Se colocó la muestra en un horno a 103°C hasta que el peso residual permaneció constante (al menos 24 h). Se enfrió la muestra en un desecador durante 1 h y luego se pesó inmediatamente. Los resultados se expresan en % (g de materia seca por 100 g de muestra).

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

m1 = peso de la cubeta de aluminio seca (en g)

m2 = peso de la cubeta de aluminio con la muestra antes del secado (en g)

15 m3 = peso de la cubeta de aluminio con la muestra tras el secado (en g)

Determinación de la distribución de masa molecular de la inulina

20 La determinación de la distribución de masa molecular de la muestra de inulina se realizó mediante cromatografía de intercambio aniónico de alto rendimiento acoplada con detección amperométrica de pulsos (HPAEC-PAD) en un sistema cromatográfico Thermo scientific - Dionex ICS 5000. La separación de las diversas longitudes de cadena se logró mediante una columna CarboPac PA100 4 mm *250 mm (+ guard) a 40°C con una velocidad de flujo de 1 ml/min. Se usó hidróxido de sodio 160 mM como eluyente. Un gradiente de acetato de sodio durante la ejecución permitió separar las diversas longitudes de cadena. El software permitió determinar cada área de pico correspondiente en nC*min.

DP promedio en determinación en número

25 Se inyectaron diferentes concentraciones de inulina patrón con el fin de asignar los picos en el cromatograma basándose en el tiempo de retención del patrón y para trazar las curvas de calibración.

Las curvas de calibración permitieron determinar la concentración en masa de cada especie de inulina molecular en la Ci de muestra. La concentración molar (Ni) de las moléculas que tenían i residuos se calculó como Ci/MWi, donde MWi es el peso molecular las moléculas que tienen i residuos

30 El grado de polimerización promedio el número $\overline{Dp_n}$ se calculó como

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

donde Dpi es el número de residuo.

Determinación de azúcares libres

35 En una botella pesada (Schott), se pesaron con exactitud aproximadamente 5 g de una muestra representativa (m4 a 0,001 g). entonces se añadieron aproximadamente 10 g de tampón fosfato (0,1 M) a pH=7,0 y se calentó la muestra a 80°C durante 15 minutos en un baño de agua. A continuación, se enfrió la muestra hasta temperatura ambiente y se llevó el peso total de la disolución hasta 40 g con agua desmineralizada (m5 a 0,001 g).

El primer factor de dilución fue D1 =m5/m4.

40 Finalmente, se realizaron diluciones apropiadas (D2) para los análisis de HPAEC-PAD con calibración adecuada (glucosa, fructosa, sacarosa).

Las cantidades de glucosa libre, fructosa libre y sacarosa libre se determinaron multiplicando los resultados de HPAEC-PAD por D1*D2 y se expresan en g/kg de la muestra o en % en peso basado en la materia seca.

Determinación de la cantidad de inulina

Principio

La cantidad de inulina se determinó a partir de la cantidad de glucosa y fructosa liberadas por la hidrólisis enzimática. En primer lugar se determinaron la glucosa, fructosa y sacarosa libres en una muestra representativa no hidrolizada. Se realizó la hidrólisis enzimática y se determinaron la glucosa y la fructosa totales. Las cantidades liberadas se obtuvieron por diferencia teniendo en cuenta las cantidades de glucosa y fructosa liberadas de la sacarosa.

El método se basó en el método AOAC997.08 con ligeras adaptaciones tal como se describe a continuación.

Determinación de los azúcares libres

Las cantidades de glucosa libre (Gf), fructosa libre (Ff) y sacarosa libre (S) se determinaron mediante HPAEC-PAD tal como se describió anteriormente en el presente documento.

Hidrólisis enzimática – determinación de fructosa total y glucosa total

En un vaso de precipitados pesado, se pesó con exactitud aproximadamente 1 g de una muestra representativa (m6 a 0,001 g). Entonces, se añadieron aproximadamente 20 g de tampón acetato (0,1 M) a pH 4,75 y se homogeneizó la mezcla. Después, se calentó la muestra a 80°C durante 15 minutos en un baño de agua y se enfrió hasta 60°C en un baño de agua (se dejó que se equilibrara). A continuación, se añadieron 50 ml de Fructozyme (Novozym SP 230®, Novo Nordisk) y se homogeneizó la mezcla. Entonces se cerró la botella y se incubó la mezcla en un baño de agua a 60°C durante 2 horas. Se enfrió la muestra hasta temperatura ambiente y se llevó la masa de la disolución hasta 40 g con agua desmineralizada (m7 a 0,001g). Finalmente se homogeneizó la muestra.

El primer factor de dilución es de $D3 = m7/m6$

Se realizaron diluciones apropiadas (D4) para los análisis de HPAEC-PAD con calibración adecuada (glucosa y fructosa).

Las cantidades de glucosa total (Gt) y fructosa total (Ft) se determinaron multiplicando los resultados de HPAEC-PAD por $D3 \cdot D4$ y se expresaron en g/kg de la composición inicial.

Cálculos

La glucosa liberada de la fracción de inulina es $G_i = G_t - G_f - S/1,9$ (en g/kg)

La fructosa liberada de la fracción de inulina es $F_i = F_t - F_f - S/1,9$ (en g/kg)

La cantidad de inulina en la muestra es $k(G_i + F_i)$

Donde k es un factor que tiene en cuenta el aumento de materia seca debido a la hidrólisis de inulina. En los ejemplos k se fijó a 0,91.

30 Pérdida de inulina

La pérdida de inulina se definió como la diferencia entre la cantidad de inulina antes y después de la incubación con levadura expresada en porcentaje en masa de la cantidad inicial.

Determinación de ácidos orgánicos

La determinación de la concentración de ácidos orgánicos se realizó mediante el sistema de cromatografía de líquidos de alto rendimiento (LCM1 Waters) que comprende un detector UV (Waters 2487), un inyector automático (Waters 717) y un controlador (Waters 600). La separación de los picos se logró mediante una columna HPX-87H Biorad a 65°C con una velocidad de flujo de 0,8 ml/min. Se usó H_2SO_4 0,0045 N como eluyente.

La línea de calibración se obtuvo mediante la inyección de 10 µl, 25 µl, 40 µl, 50 µl de una disolución madre de 1 g/l de diferentes ácidos que iban a someterse a ensayo. Las curvas de calibración permitieron determinar la concentración de cada especie molecular en la muestra. Se inyectaron 25 µl de la muestra durante un tiempo de análisis de 20 minutos.

Determinación de alcoholes y componentes volátiles

La determinación de los alcoholes y componentes volátiles se realizó mediante cromatografía de gases acoplada con detector FID en un sistema cromatográfico Perkin-Elmer 8000. La separación de picos se logró mediante una columna CP WAX-52. El análisis se realizó usando la técnica de Head Space. La fase gaseosa en equilibrio con la fase líquida se inyectó en la cromatografía de gases según un programa de temperatura (precalentamiento: 60°C/20 min; calentamiento: elevación desde 60° por minuto hasta 110°; temperatura del inyector (HS40 Perkin-Elmer): 110°C; temperatura del detector FID: 250°C).

Se inyectó una mezcla de patrones de componentes volátiles a diferentes concentraciones con el fin de trazar las curvas de calibración y para asignar los picos en el cromatograma basándose en el tiempo de retención del patrón. Las curvas de calibración permitieron determinar la concentración de cada especie molecular en la muestra.

5 Preparación de composiciones que comprenden fructano y sacarosa (extracto rico en inulina) - etapa (a). Composiciones A1-A3

10 Se lavaron raíces de achicoria y se cortaron en cosetas. Entonces se usó difusión a contracorriente con agua caliente (70°C) para extraer la inulina de las cosetas. La razón de cosetas con respecto a agua fue de 1. El tiempo de extracción fue de 2 horas. El jugo resultante que contenía inulina en disolución se filtró de manera somera con el fin de retirar las cosetas agotadas. El jugo resultante se filtró adicionalmente para retirar pequeño material insoluble. El pH se ajustó a 4 con HCl al 25%. Una etapa de concentración a 100°C durante 1 hora permitió aumentar la materia seca hasta el 40% p/p, preparando de ese modo las composiciones A1-A3.

Composición F

15 Se lavaron raíces de achicoria y se cortaron en cosetas. Entonces se usó difusión a contracorriente con agua caliente (70°C) para extraer la inulina de las cosetas. La razón de cosetas con respecto a agua fue de 1. El tiempo de extracción fue de 2 horas. El jugo resultante que contenía inulina en disolución se filtró de manera somera con el fin de retirar las cosetas agotadas. El jugo resultante se filtró adicionalmente para retirar pequeño material insoluble. Una etapa de concentración etapa a 100°C durante 1 hora permitió aumentar la materia seca hasta el 40% p/p, preparando de ese modo la composición F.

Preparación de composiciones que comprenden fructano y sacarosa (composiciones ricas en inulina) - etapa (a)

20 Composiciones B1-B7

Se suspendieron 217 g de Fibruline® instant (disponible comercialmente de Cosucra groupe Warcoing) en 1 kg de solución de tampón fosfato, pH 5,8.

El tampón fosfato se preparó tal como sigue: se mezclaron juntos 467,5 ml de disolución de KH₂PO₄ 0,2 mol/l y 32,5 ml de K₂HPO₄ 0,2 mol/l. Entonces se efectuó la mezcla hasta 1 l con agua destilada.

25 Se colocaron 90 g de la suspensión de Fibruline® Instant en un matraz de 250 ml y se esterilizó (20 min, 121°C), preparando de ese modo las composiciones B1-B7.

Composición C

30 Se suspendieron 434 g de Fibruline® instant (disponible comercialmente de Cosucra groupe Warcoing) en 2 kg de agua desmineralizada. Entonces se añadieron 1800 g de la suspensión de Fibruline® instant en el biorreactor de 2 l y se esterilizó (20 min, 121°C), preparando de ese modo la composición C.

Composición D

Se suspendieron 31,5 kg de Fibrulose® F90 (disponible comercialmente de Cosucra groupe Warcoing) en 40 kg de agua desmineralizada. Entonces se añadieron 40 kg de la suspensión de Fibrulose® F90 en una cuba de 60 l, preparando de ese modo la composición D. La composición D no se esterilizó.

35 Composición E

Se suspendieron 10,5 kg de Fibrulose® F90 (disponible comercialmente de Cosucra groupe Warcoing) en 40 kg de agua desmineralizada. Entonces se añadieron 40 kg de la suspensión de Fibrulose® F90 en una cuba de 60 l, preparando de ese modo la composición E. La composición E no se esterilizó.

La concentración de inulina y azúcares libres de las composiciones A-F se enumeran en la tabla 3.

40 Tabla 3

Composición	% en p/p de materia seca basado en el peso total de la composición	% en p/p de inulina basado en la materia seca total	% en p/p de glucosa basado en la materia seca total	% en p/p de fructosa basado en la materia seca total	% en p/p de sacarosa basado en la materia seca total
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

Ejemplo 1: Especificidad de diferentes levaduras para una composición que comprende inulina, sacarosa y otros azúcares libres- etapa (b).

Se preparó una disolución de extracto de levadura tal como sigue: Se disolvieron 10 g de extracto de levadura (Merck) en 100 ml de agua desmineralizada. Entonces se esterilizó la disolución (20 min, 121°C).

- 5 Se añadieron 10 g de la disolución de extracto de levadura esterilizada a 90 g de la composición B1-B5 respectivamente. No se proporcionó aireación complementaria.

10 Se inocularon las composiciones B1-B5, complementadas con extracto de levadura, a una concentración de 10^5 UFC/ml con diferentes levaduras, respectivamente: *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70 (de Fermentis, grupo Lesaffre), *Kluyveromyces lactis* CBS 2103 (del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL), *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495 (de MUCL Louvain-La-Neuve, Bélgica), *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491 (de MUCL Louvain-La-Neuve, Bélgica) y *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 (depositada en las Colecciones coordinadas belgas de microorganismos (BCCM) con el número de registro MUCL 55125). Se incubaron las composiciones a diferentes temperaturas (20°C y 30°C) con una velocidad de agitación de 160 rpm. Los resultados de estos experimentos se muestran en las figuras 1 a 15.

15 Las figuras 1, 2, 3 y 4 muestran el crecimiento (medido como la densidad óptica a 660nm) a lo largo del tiempo a 30°C de *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70, *Kluyveromyces lactis* CBS 2103, *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495 y *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491, respectivamente, incubadas con las composiciones B1-B4, respectivamente, en un matraz de 250 ml.

20 La figura 5 muestra el crecimiento (medido como la densidad óptica a 660nm) a lo largo del tiempo a 30°C y a 20°C de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 incubada con la composición B5 en un matraz de 250 ml.

25 Las figuras 6, 8, 10, 12 y 14 muestran la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B1-B5 respectivamente incubada con *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70, *Kluyveromyces lactis* CBS 2103, *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495, *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491 y *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125, respectivamente, en un matraz de 250 ml. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

30 Las figuras 7, 9, 11, 13 y 15 muestran la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 30°C de las composiciones B1-B5, respectivamente, incubadas con *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70, *Kluyveromyces lactis* CBS 2103, *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495, *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491 y *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125, respectivamente, en un matraz de 250 ml. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanoculombio (nC) * tiempo de retención (min) -normalizada según la dilución de la composición).

35 A partir de las figuras 6-15, está claro que *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* son buenas en la degradación de azúcares libres. A partir de las figuras, puede observarse que *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 degrada los azúcares libres más rápido que *Saccharomyces cerevisiae* w-34/70, *Kluyveromyces lactis* CBS 2103, *Saccharomyces bayanus* var. *bayanus* MUCL 31495 y *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 31491, y/o tiene una mayor especificidad hacia azúcares libres en comparación con inulina.

En la tabla 4 se enumeran ejemplos no limitativos de condiciones óptimas. Estas condiciones permiten la degradación de una cantidad máxima de azúcares libres y la degradación limitada de inulina.

Tabla 4

Cepa	Temperatura (°C)	Duración de fermentación (h)	Glucosa residual (% en peso de materia seca)	Fructosa residual (% en peso de materia seca)	Sacarosa residual (% en peso de materia seca)	Azúcares libres residuales totales (% en peso de materia seca)	Pérdida de inulina (%)
<i>Kluyveromyces</i>	30	30-35h	0-0,5	1,5-2,5	0-0,5	2-3	5-10

<i>lactis</i> CBS 2103							
<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

Ejemplo 2: Incubación de una composición que comprende inulina y sacarosa con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 - (etapa b)

Ejemplo en un biorreactor de 2 l

5 Se preparó una disolución de extracto de levadura tal como sigue: Se disolvieron 20 g de extracto de levadura (Merck) en 200 ml de agua desmineralizada y se esterizaron (20 min, 121°C).

Se añadieron 200 g de la disolución de extracto de levadura esterilizada en un biorreactor de 2 l que contenía 1800 g de la composición C.

10 No se proporcionó aireación complementaria. El pH de la composición se mantuvo en un valor de 5 usando una bomba peristáltica que proporcionaba una disolución básica como hidróxido de sodio 10 mol/l y una disolución ácida como ácido fosfórico al 30% v/v.

Se incubó la composición C, complementada con extracto de levadura, a una concentración de 10^5 UFC/ml a 30°C a una velocidad de agitación de 160 rpm con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125.

Tras 62 h, la pérdida de inulina fue de menos del 2%.

15 La figura 16 muestra el crecimiento (medido como la densidad óptica) a lo largo del tiempo a 30°C de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 incubada con la composición C en un biorreactor de 2 l.

La figura 17 muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 30°C de la composición C incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 en un biorreactor de 2 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

20 La figura 18 muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 30°C de la composición C incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 en un biorreactor de 2 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanoculombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

Ejemplo en una cuba de 60 l

25 Se disolvieron 40 g de extracto de levadura (Merck) en 100 ml de agua desmineralizada. Entonces, se esterilizó la disolución (20 min, 121°C) y se añadió a 40 kg de la composición D.

No se proporcionó aireación complementaria. No se controló el pH.

Se inoculó la composición D, complementada con extracto de levadura, a una concentración de 10^5 UFC/ml a 20°C sin agitación con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125.

30 La figura 19 muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 20°C de la composición D incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 en una cuba de 60 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

35 La figura 20 muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 20°C de la composición D incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 en una cuba de 60 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanoculombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

Tras 150 h, la pérdida de inulina para la composición D fue de menos del 2%.

Se disolvieron 40 g de extracto de levadura (Merck) en 100 ml de agua desmineralizada. Entonces, se esterilizó la

disolución (20 min, 121°C) y se añadió a 40 kg de la composición E.

No se proporcionó aireación complementaria. No se controló el pH.

Se inoculó la composición E, complementada con extracto de levadura, a una concentración de 10⁵ UFC/ml a 20°C sin agitación con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125.

5 La figura 21 muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 20°C de la composición E incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 en una cuba de 60 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p).

10 La figura 22 muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 20°C de la composición E incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 en una cuba de 60 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

Tras 50 h la pérdida de inulina para la composición E fue de menos del 4%.

Ejemplo 3: Incubación de una composición que comprende inulina y sacarosa, con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* (MUCL 55125) - etapa (b)

15 Se inocularon 2 kg de la composición A1 a una concentración de 10⁵ UFC/ml con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 y se incubaron a diferentes temperaturas (20°C y 30°C) con una velocidad de agitación de 160 rpm en un biorreactor de 2 l.

20 La composición A1 no se esterilizó. No se añadieron fuente de hidrógeno ni aireación complementarias. El pH de la composición se mantuvo en un valor de 5 usando una bomba peristáltica que proporcionaba una disolución básica como hidróxido de sodio 10 mol/l y una disolución ácida como ácido fosfórico al 30% v/v.

La figura 23 muestra el crecimiento a 30°C (medido como la densidad óptica) a lo largo del tiempo de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 incubada con la composición A1 en un biorreactor de 2 l.

25 La figura 24 muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 20°C (A) y a 30°C (B) de la composición A1 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 en un biorreactor de 2 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (resultados expresados como % p/p basándose en la materia seca total).

30 La figura 25 muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 20°C (A) y 30°C (B) de la composición A1 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 en un biorreactor de 2 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

La tabla 5 muestra la lista y la concentración de subproductos aislados de la composición A1 antes y después de la incubación con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 a 20°C.

Tabla 5

Composición A incubada a 20°C		
	Antes de la incubación	Después de la incubación
	ml/l	ml/l
Acetaldehído	0,0042	0,0155
Acetato de etilo	0,00052	0,0528
Propanol	0	0,0231
Isobutanol	0	0,0196
Alcohol isoamílico	0,00266	0,0891
Etanol	0	46
	g/l	g/l
Citrato	5,8	4,715
Piruvato	0,075	0,27
Malato	4,85	5,64
Succinato	4,78	2,51
Lactato	1,63	1,46
Acetato	3,163	3,46
Propionato	0	0
Butirato	0	0

35 Puede observarse a partir de los resultados de la tabla 5 que la incubación con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 produce principalmente etanol como productos de degradación de azúcares libres.

Ejemplo 4: Incubación de una composición que comprende inulina y sacarosa, con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125, a 4°C – etapa (b)

5 Se inoculó 1 kg de la composición A2 a una concentración de 10^5 UFC/ml con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 y se incubó a 4°C en un matraz de 1 l con una velocidad de agitación de 110 rpm. La composición A2 no se esterilizó. No se añadieron fuente de hidrógeno ni aireación complementarias. No se controló el pH.

La figura 26 muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 4°C de la composición A2 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 en un matraz de 1 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

10 La figura 27 muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 4°C de la composición A2 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 en un matraz de 1 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

15 Incluso a baja temperatura, *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 es activa para llevar a cabo una degradación adecuada (aunque más lenta) de azúcares libres sin degradación de inulina significativa, en comparación con los experimentos realizados a temperatura ambiente (figuras 24 y 25).

Ejemplo 5: Estudio del metabolismo de *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 con aireación - etapa (b)

Se inocularon 2 kg de la composición A3 con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 a una concentración de 10^5 UFC/ml y se incubaron a 25°C en un biorreactor de 2 l con una velocidad de agitación de 160 rpm y una velocidad de aireación de 1 l/min.

20 La composición A3 no se esterilizó. No se añadió fuente de hidrógeno complementaria. El pH de la composición A3 se mantuvo a un valor de 5 usando una bomba peristáltica que proporcionaba una disolución básica como hidróxido de sodio 10 mol/l y una disolución ácida como ácido fosfórico al 30% v/v.

25 La figura 28 muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 25°C con aireación de la composición A3 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 en un biorreactor de 2 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

La figura 29 muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 25°C con aireación de la composición A3 incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 en un biorreactor de 2 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

30 La aireación estimula la fermentación de azúcares libres. De hecho, la degradación de azúcares libres por la levadura fue mucho más rápida en comparación con fermentación que se produce sin aireación (figuras 24 y 25).

Ejemplo 6: Comparativo: Incubación de una composición que comprende inulina y sacarosa, con *Rhodotorula dairenensis* CBS 7294 (etapa b)

35 Se preparó una disolución de extracto de levadura tal como sigue: Se disolvieron 10 g de extracto de levadura (Merck) en 100 ml de agua desmineralizada. Entonces se esterilizó la disolución (20 min, 121°C).

Se añadieron 10 g de la disolución de extracto de levadura esterilizada a 90 g de la composición B6. No se proporcionó aireación complementaria.

40 Se inoculó la composición B6, complementada con extracto de levadura, con *Rhodotorula dairenensis* CBS 7294 (del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL) a una concentración de 10^5 UFC/ml y se incubó a 30°C con una velocidad de agitación de 160 rpm.

La figura 30 muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B6 incubada con *Rhodotorula dairenensis* CBS 7294 en un matraz de 250 ml. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

45 La figura 31 muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B6 incubada con *Rhodotorula dairenensis* CBS 7294 en un matraz de 250 ml. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

50 A partir de las figuras 30-31 y 17-18, está claro que *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 degrada todos los azúcares libres sometidos a prueba, mientras que *Rhodotorula dairenensis* CBS 7294 genera más azúcares libres. *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 tiene claramente una mayor especificidad hacia azúcares libres en comparación con inulina.

Ejemplo 7: Comparativo: Incubación de una composición que comprende inulina y sacarosa, con *Aureobasidium Pullulans* CBS 621.80 - (etapa b)

Se preparó una disolución de extracto de levadura tal como sigue: Se disolvieron 10 g de extracto de levadura (Merck) en 100 ml de agua desmineralizada. Entonces se esterilizó la disolución (20 min, 121°C).

- 5 Se añadieron 10 g de la disolución de extracto de levadura esterilizada a 90 g de la composición B7. No se proporcionó aireación complementaria.

Se inoculó la composición B7, complementada con extracto de levadura, con *Aureobasidium Pullulans* CBS 621.80 (obtenida del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL) a una densidad óptica (DO a 660 nm) de 0,1 y se incubó a 30°C con una velocidad de agitación de 160 rpm.

- 10 La figura 32 muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B7 incubada con *Aureobasidium Pullulans* CBS 621.80. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

La figura 33 muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 30°C de la composición B7 incubada con *Aureobasidium Pullulans* CBS 621.80. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

- 15

A partir de las figuras 32-33 y 17-18, está claro que *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* (MUCL 55125) degrada todos los azúcares libres sometidos a prueba, mientras que *Aureobasidium Pullulans* CBS 621.80 genera más azúcares libres. *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 tiene claramente una mayor especificidad hacia azúcares libres en comparación con inulina

- 20

Ejemplo 8: Incubación de una composición que comprende inulina y sacarosa, con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 - (etapa b)

Se inocularon 40 kg de la composición F en una cuba de 60 l a una concentración de 10⁵ UFC/ml a 30°C sin agitación con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125.

- 25 No se proporcionó aireación complementaria. No se controló el pH.

La figura 34 muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 30°C de la composición F incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 en una cuba de 60 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

- 30 La figura 35 muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del tiempo a 30°C de la composición F incubada con *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* MUCL 55125 en una cuba de 60 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

Ejemplo 9: Especificidad de *Kluyveromyces lactis* CBS 2103 para una composición que comprende inulina, sacarosa y otros azúcares libres- etapa (b).

- 35 Se preparó una disolución de extracto de levadura tal como sigue: Se disolvieron 20 g de extracto de levadura (Merck) en 200 ml de agua desmineralizada y se esterilizaron (20 min, 121°C).

Se añadieron 200 g de la disolución de extracto de levadura esterilizada en un biorreactor de 2 l que contenía 1800 g de la composición C.

- 40 No se proporcionó aireación complementaria. El pH de la composición se mantuvo en un valor de 5 usando una bomba peristáltica que proporcionaba una disolución básica como hidróxido de sodio 10 mol/l y una disolución ácida como ácido fosfórico al 30% v/v.

Se inoculó la composición C, complementada con extracto de levadura, a una concentración de 10⁵ UFC/ml a 20°C a una velocidad de agitación de 160 rpm con *Kluyveromyces lactis* CBS 2103 (del centro de biodiversidad fúngica CBS-KNAW, Utrecht NL).

- 45 La figura 36 muestra el crecimiento (medido como la densidad óptica) a lo largo del tiempo a 20°C de *Kluyveromyces lactis* CBS 2103 incubada con la composición C en un biorreactor de 2 l.

La figura 37 muestra la evolución de la concentración de azúcares libres a lo largo del tiempo a 20°C de la composición C incubada con *Kluyveromyces lactis* CBS 2103 en un biorreactor de 2 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (los resultados se expresan como % p/p basado en la materia seca total).

- 50 La figura 38 muestra la evolución del área de pico de GF2, F2, GF3, F3, GF4, F4, GF5, F5 y GF6 a lo largo del

tiempo a 20°C de la composición C incubada con *Kluyveromyces lactis* CBS 2103 en un biorreactor de 2 l. Los análisis se realizaron usando HPAEC-PAD (facilitándose el área en nanocolombio (nC) * tiempo de retención (min) - normalizada según la dilución de la composición).

REIVINDICACIONES

1. Método para procesar una composición que comprende fructano y sacarosa, que comprende las etapas de (a) proporcionar una composición que comprende fructano y sacarosa, en el que dicha composición que comprende fructano y sacarosa comprende al menos el 30% en peso (% p/p) de fructano basado en el peso de materia seca total de dicha composición; y (b) incubar dicha composición que comprende fructano y sacarosa con al menos una levadura seleccionada del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*; hasta que se obtiene una reducción de al menos el 10% del peso inicial de sacarosa en dicha composición,
5 en el que dicho fructano es inulina, preferiblemente inulina de achicoria.
- 10 2. Método según la reivindicación 1, en el que dicha al menos una levadura se selecciona del grupo que consiste en *Saccharomyces bayanus*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces boulardii*.
- 15 3. Método según la reivindicación 1 o 2, en el que dicha composición que comprende fructano y sacarosa comprende además uno o más azúcares libres, preferiblemente en el que dichos azúcares libres se seleccionan del grupo que comprende glucosa y fructosa.
4. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho fructano tiene un grado de polimerización promedio en número de al menos 3.
5. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho fructano es de origen vegetal, preferiblemente de origen de achicoria.
- 20 6. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicha levadura es *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* depositada en las Colecciones Coordinadas Belgas de Microorganismos (BCCM) con el número de registro MUCL 55125.
- 25 7. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dicha composición que comprende fructano y sacarosa se incuba con dicha levadura a una temperatura de al menos el punto de congelación de la composición.
8. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicha composición que comprende fructano y sacarosa se incuba con dicha levadura a un pH de al menos 2,5.
9. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que dicha composición que comprende fructano y sacarosa comprende al menos el 5% en peso y como máximo el 80% en peso de materia seca basado en el peso total de la composición.
- 30 10. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9, en el que la razón en peso de azúcares libres incluyendo sacarosa con respecto a fructano en dicha composición que comprende fructano y sacarosa al comienzo de la incubación es de al menos 1:100.
- 35 11. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que, al final de dicha etapa de incubación, el peso de fructano de dicha composición que comprende fructano y sacarosa es como máximo el 20% menor que el peso inicial de fructano al comienzo de dicha incubación, preferiblemente como máximo el 10%, lo más preferiblemente como máximo el 5%.
- 40 12. Composición que comprende fructano, sacarosa y al menos una levadura seleccionada del grupo que consiste en *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis* y *Saccharomyces boulardii*, en la que dicha composición comprende al menos el 30% en peso (% p/p) de fructano basado en el peso de materia seca total de dicha composición.
13. Levadura depositada en las Colecciones Coordinadas Belgas de Microorganismos (BCCM) con el número de registro MUCL 55125.
- 45 14. Uso de una levadura seleccionada del grupo que consiste en *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* para reducir la cantidad de sacarosa en una composición que comprende sacarosa y al menos el 30% en peso (% p/p) de fructano basado en el peso de materia seca total de dicha composición.

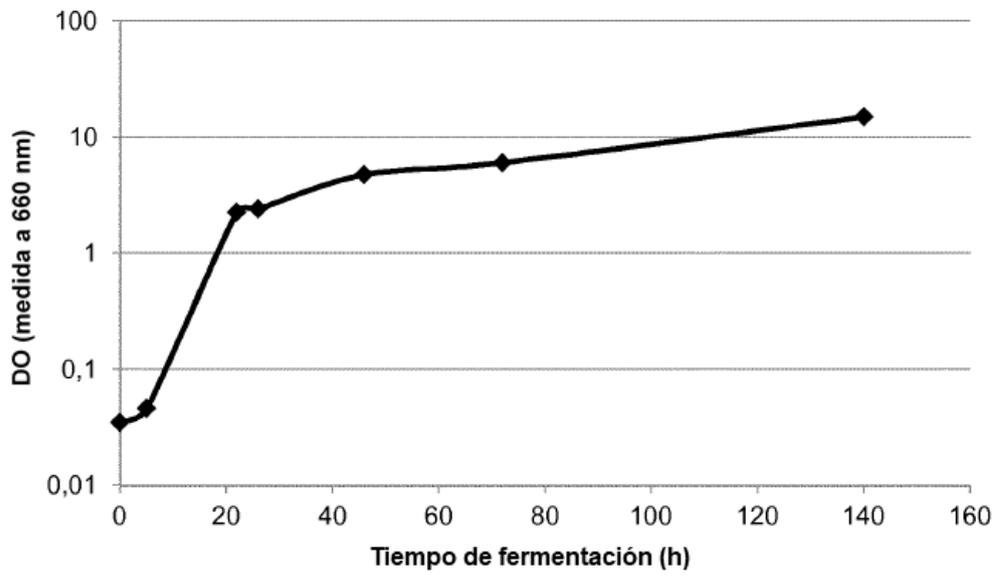


FIG. 1

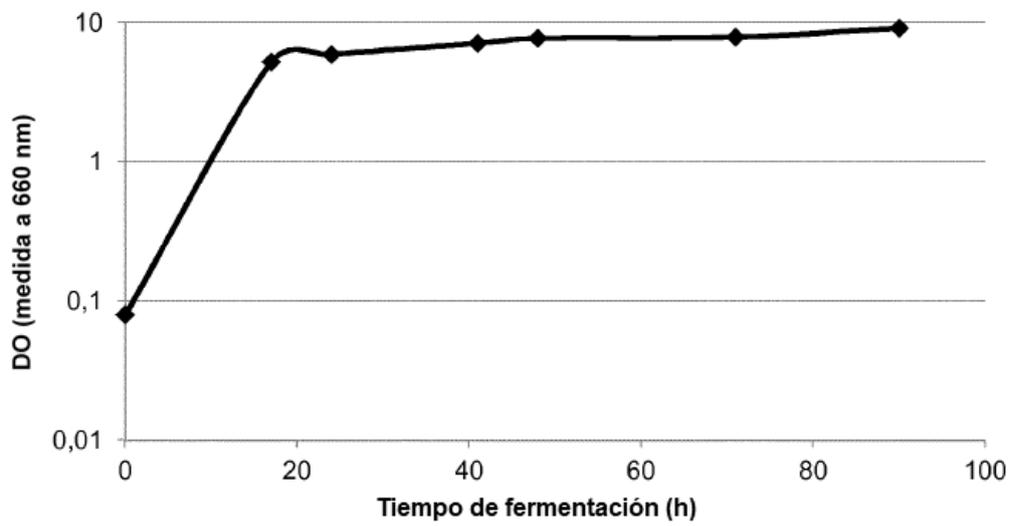


FIG. 2

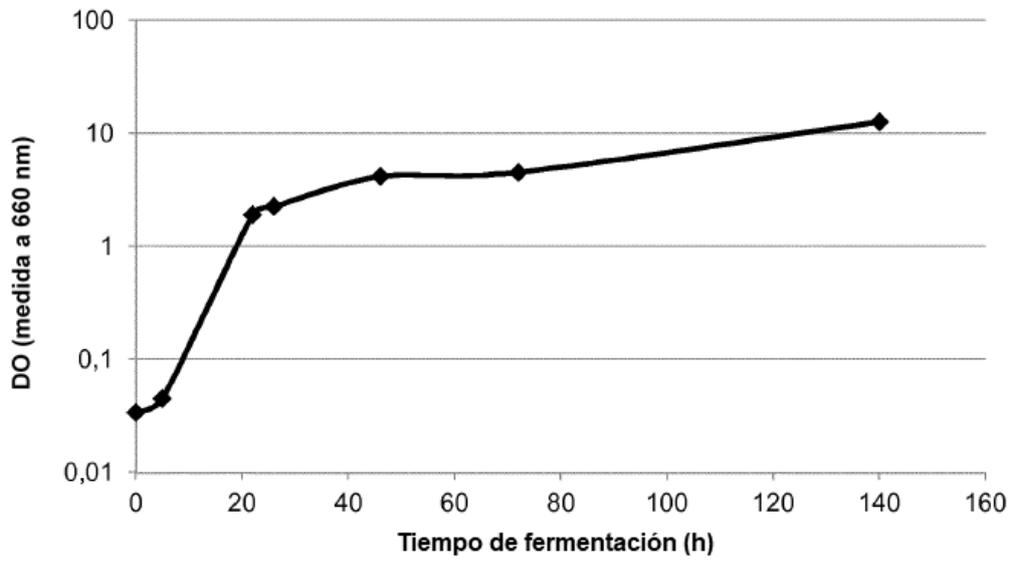


FIG. 3

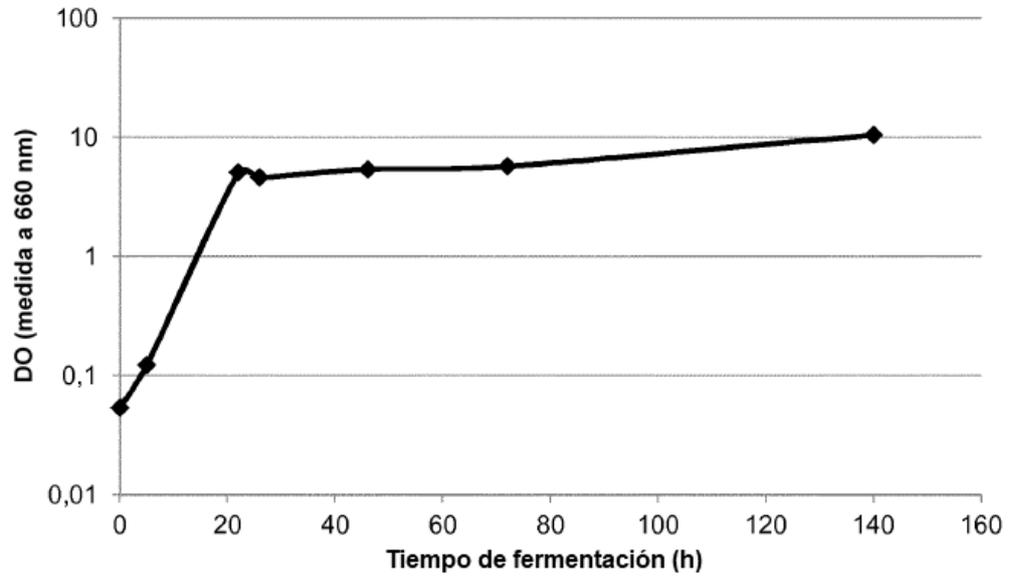


FIG. 4

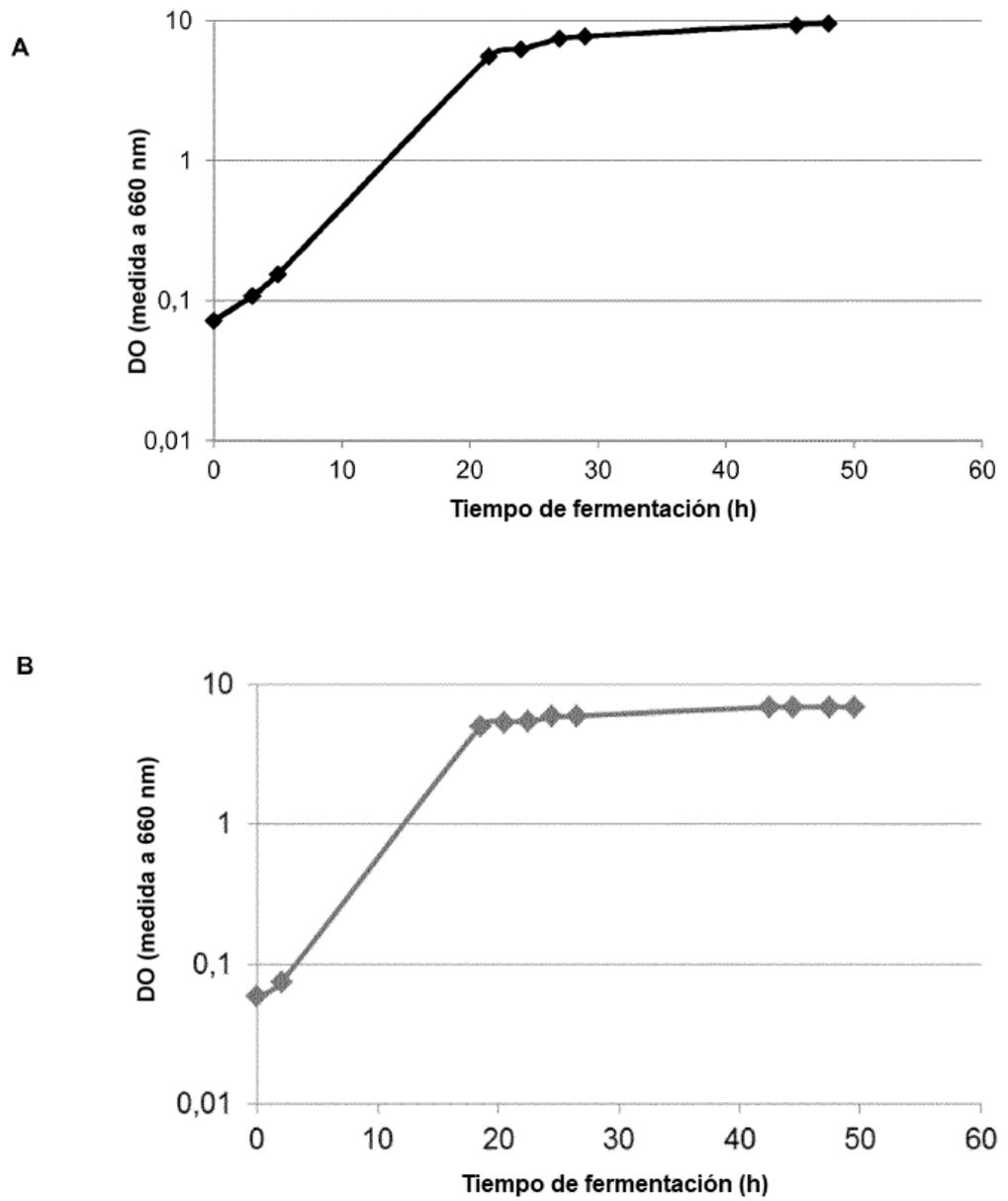


FIG. 5

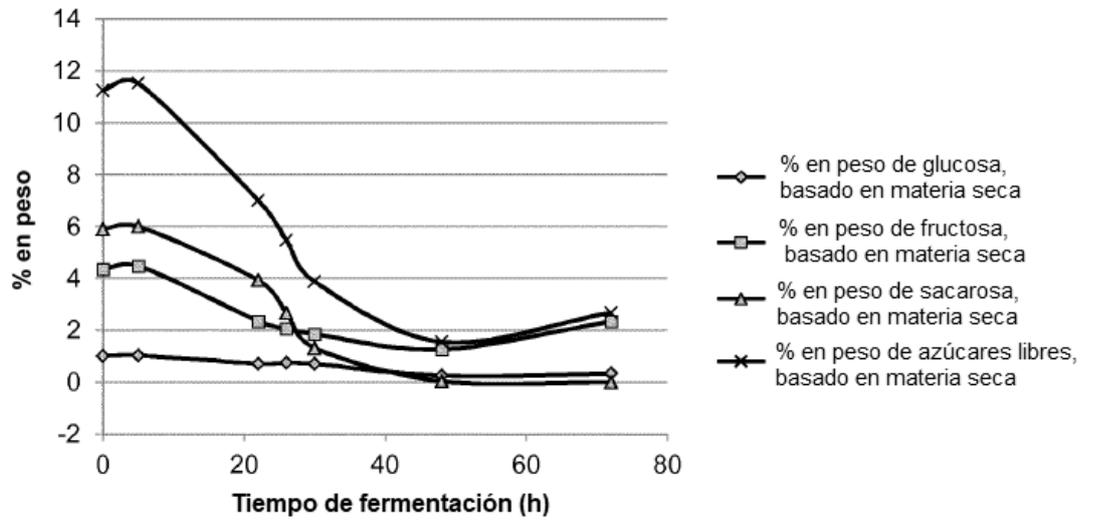


FIG. 6

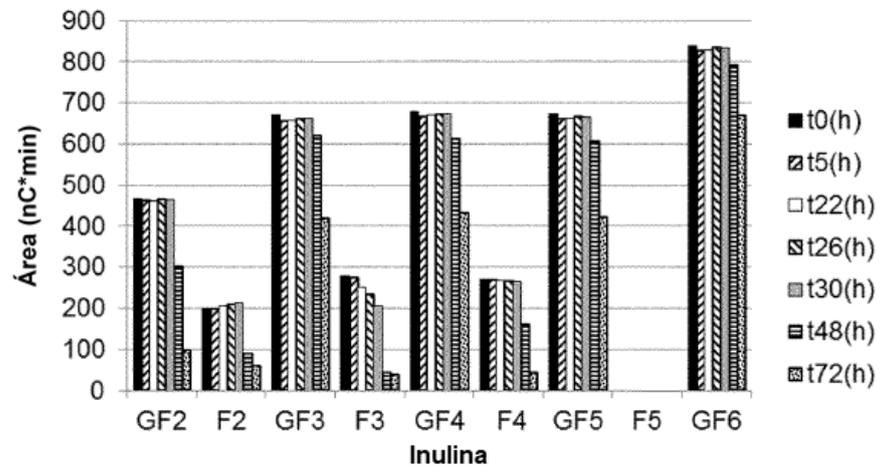


FIG. 7

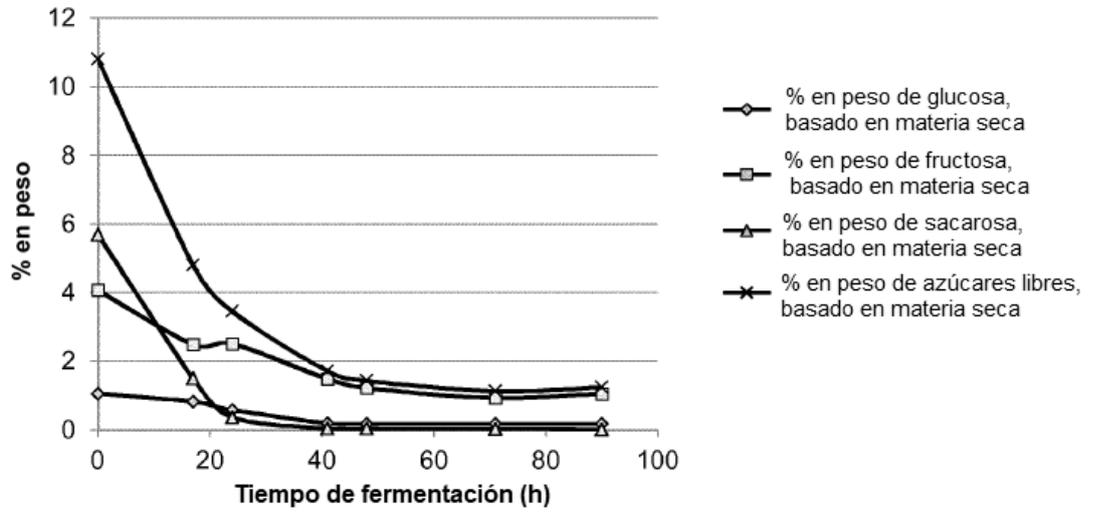


FIG. 8

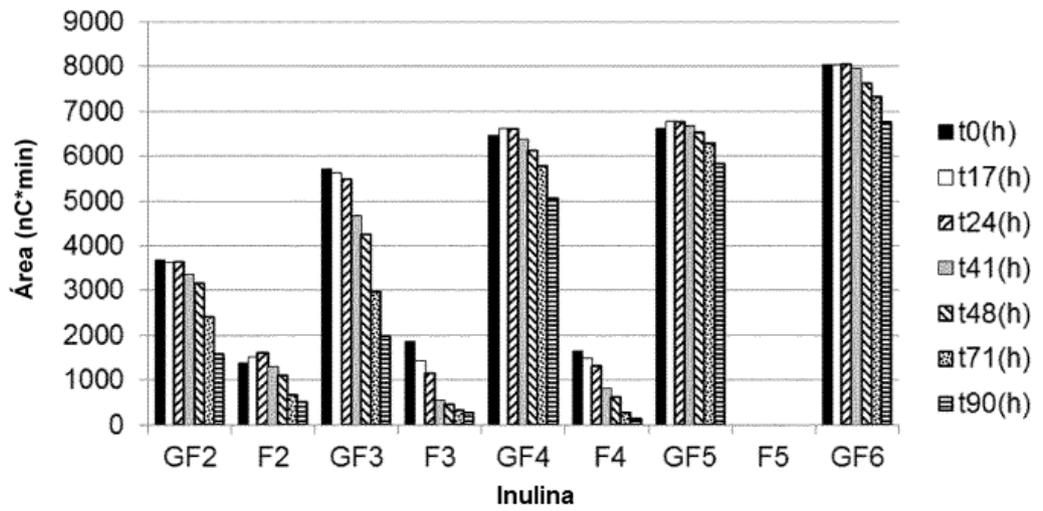


FIG. 9

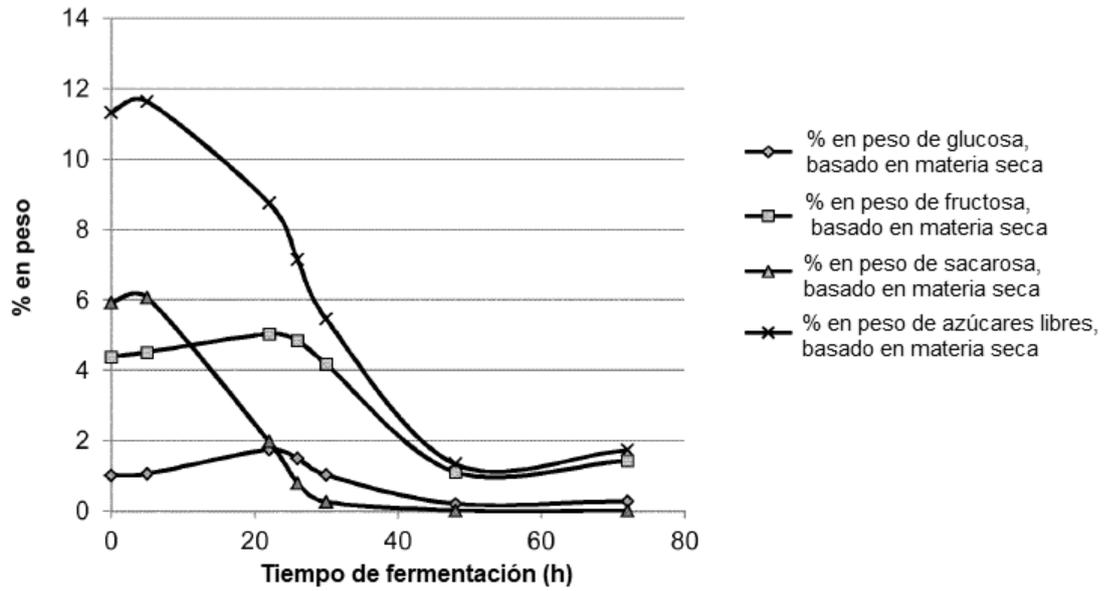


FIG. 10

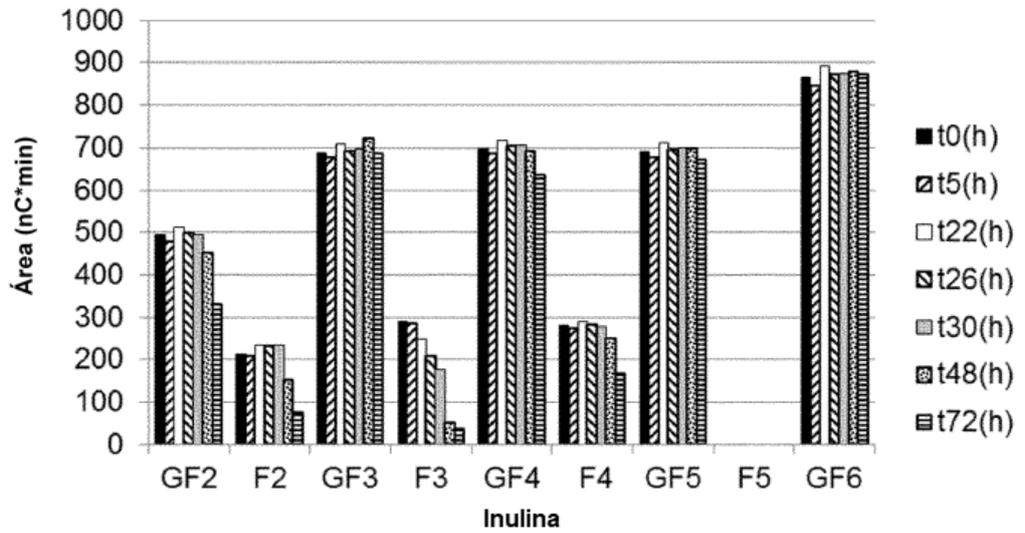


FIG. 11

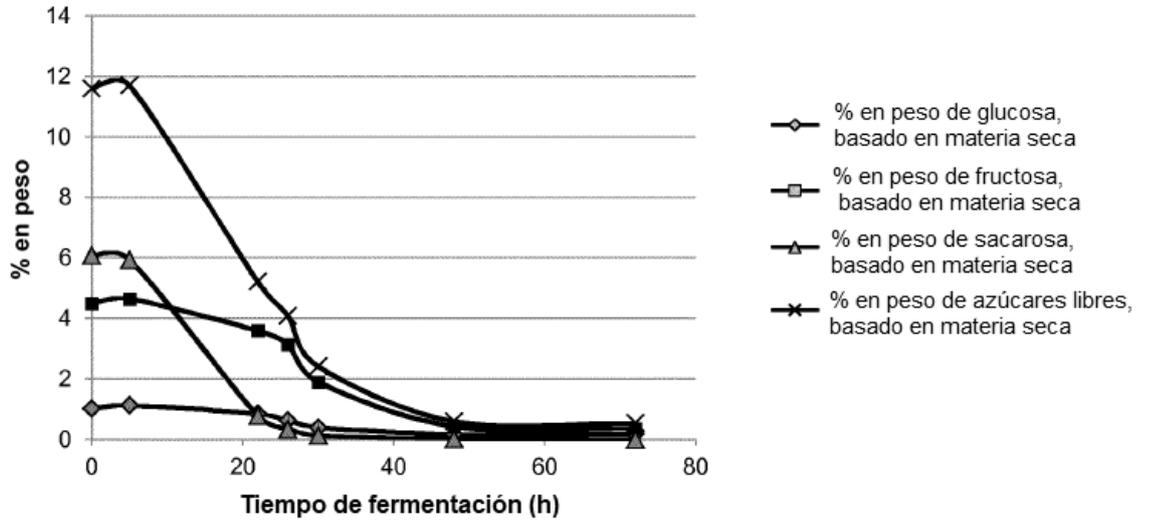


FIG. 12

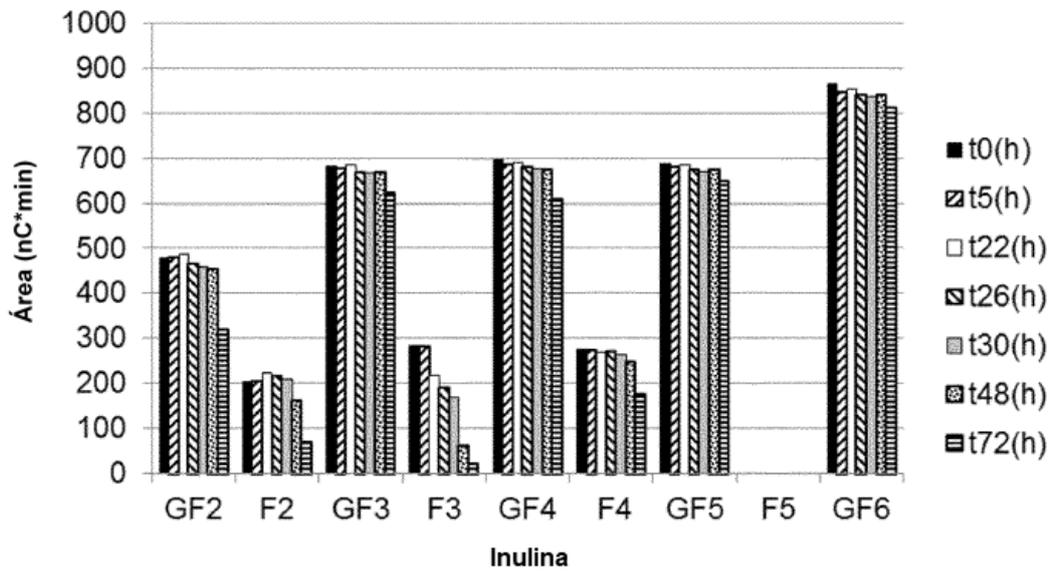


FIG. 13

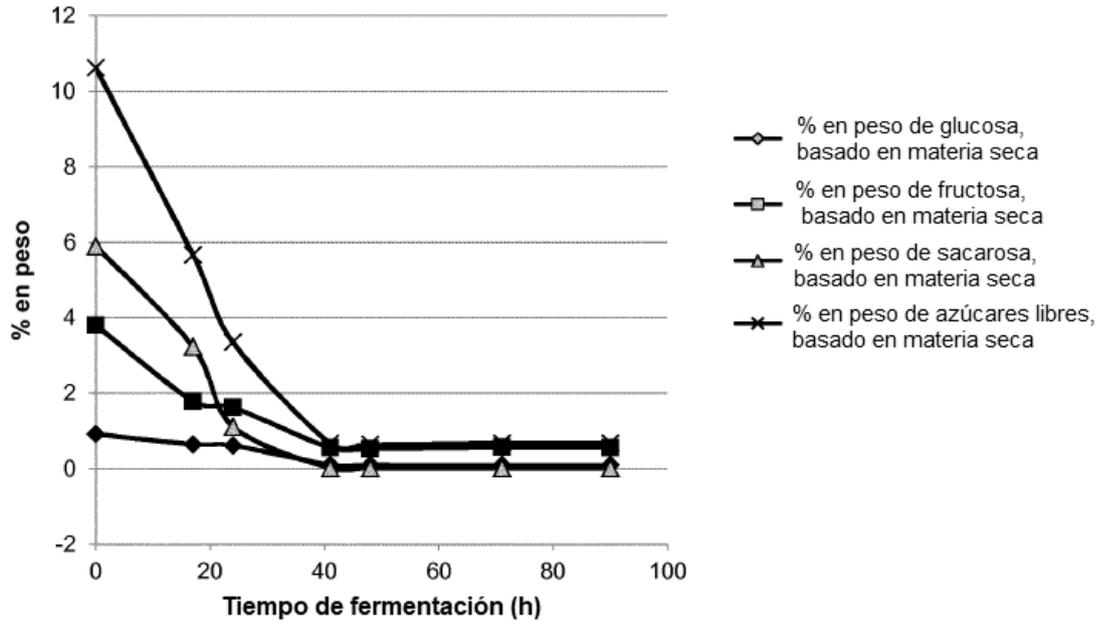


FIG. 14

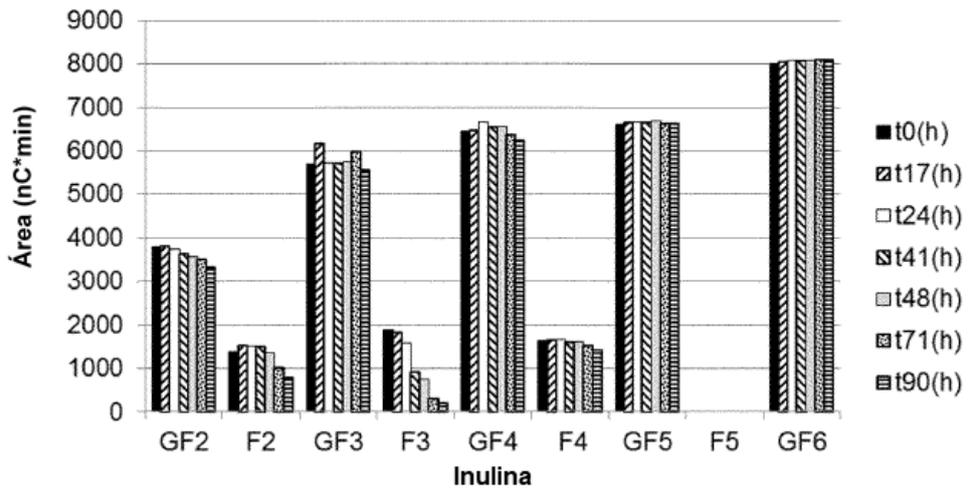


FIG. 15

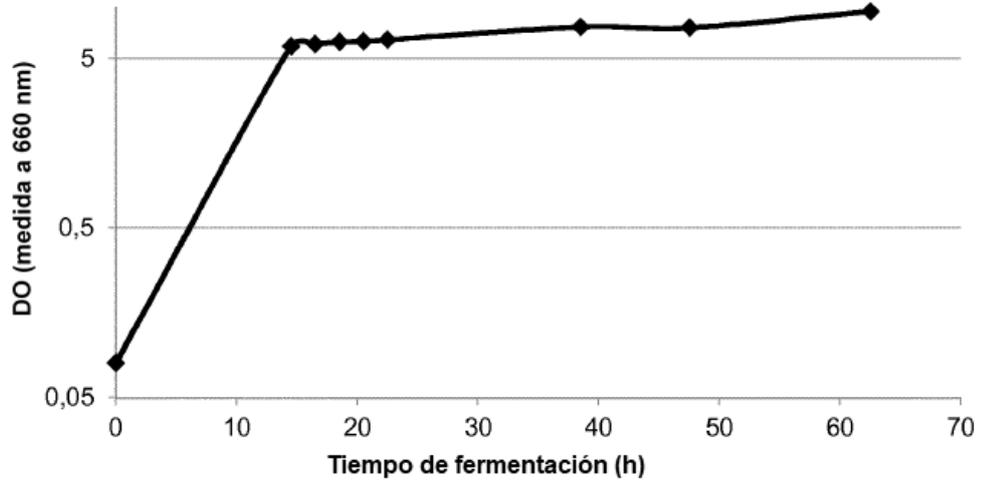


FIG. 16

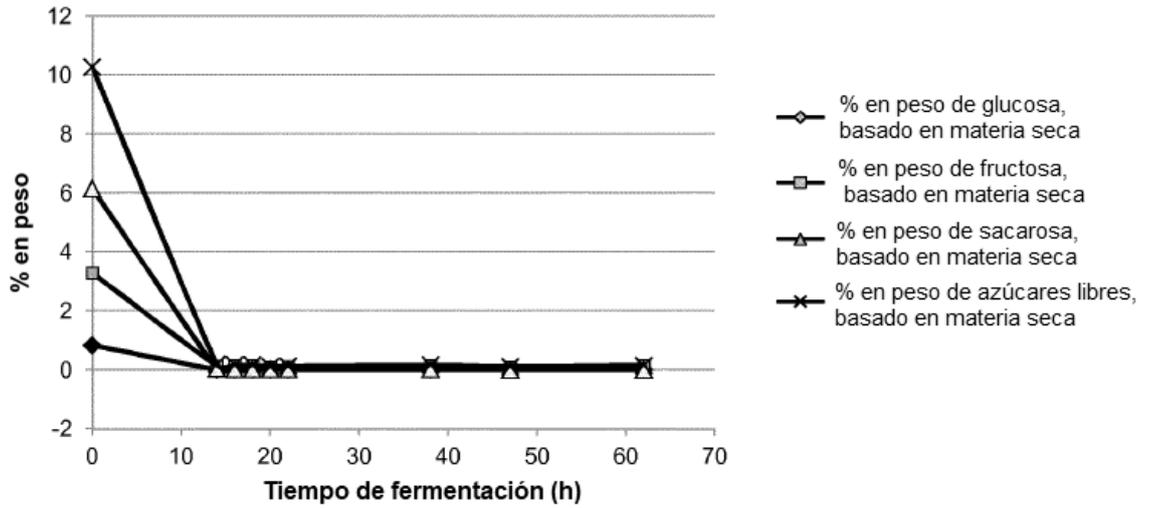


FIG. 17

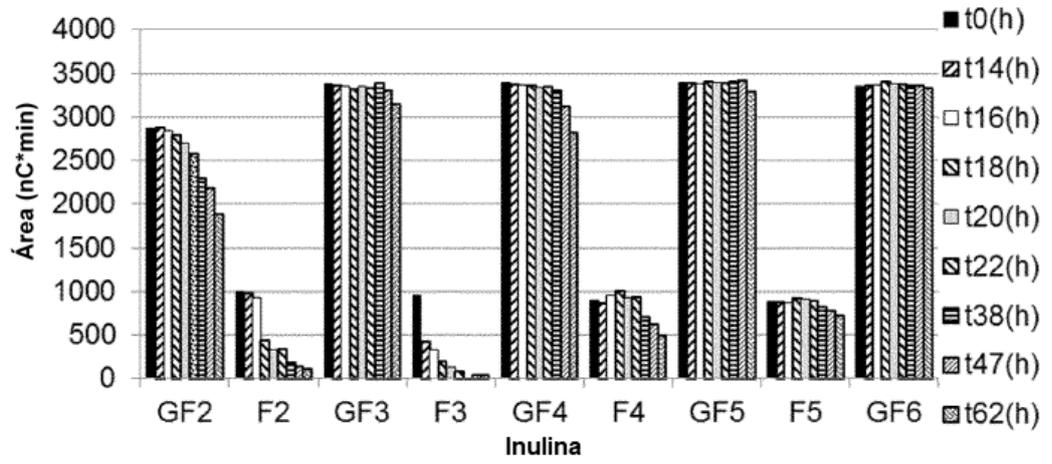


FIG. 18

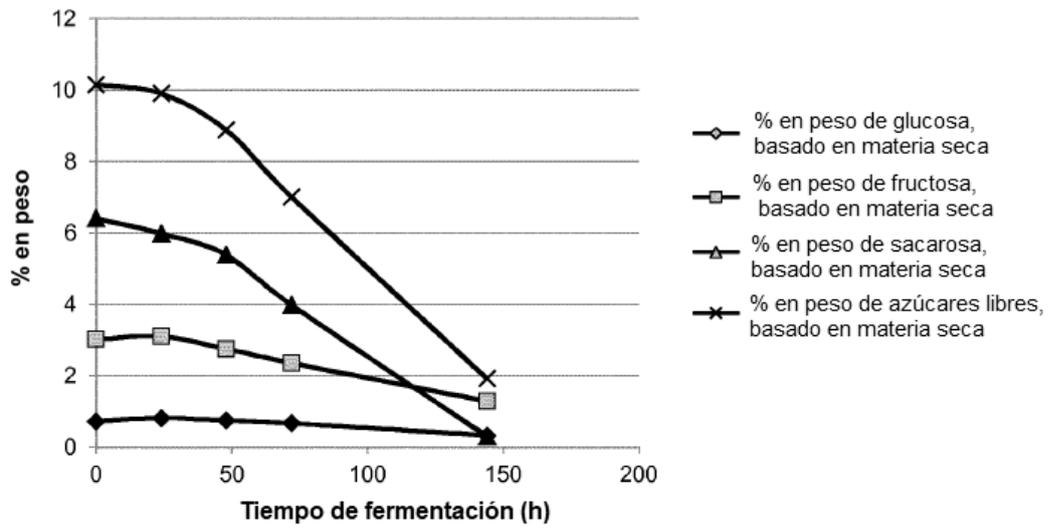


FIG. 19

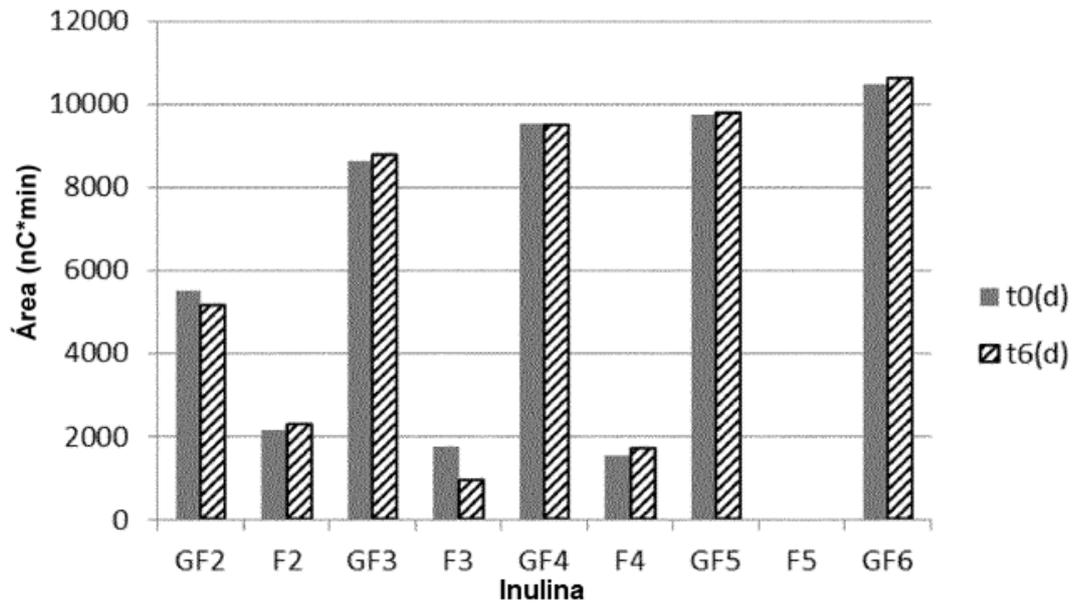


FIG. 20

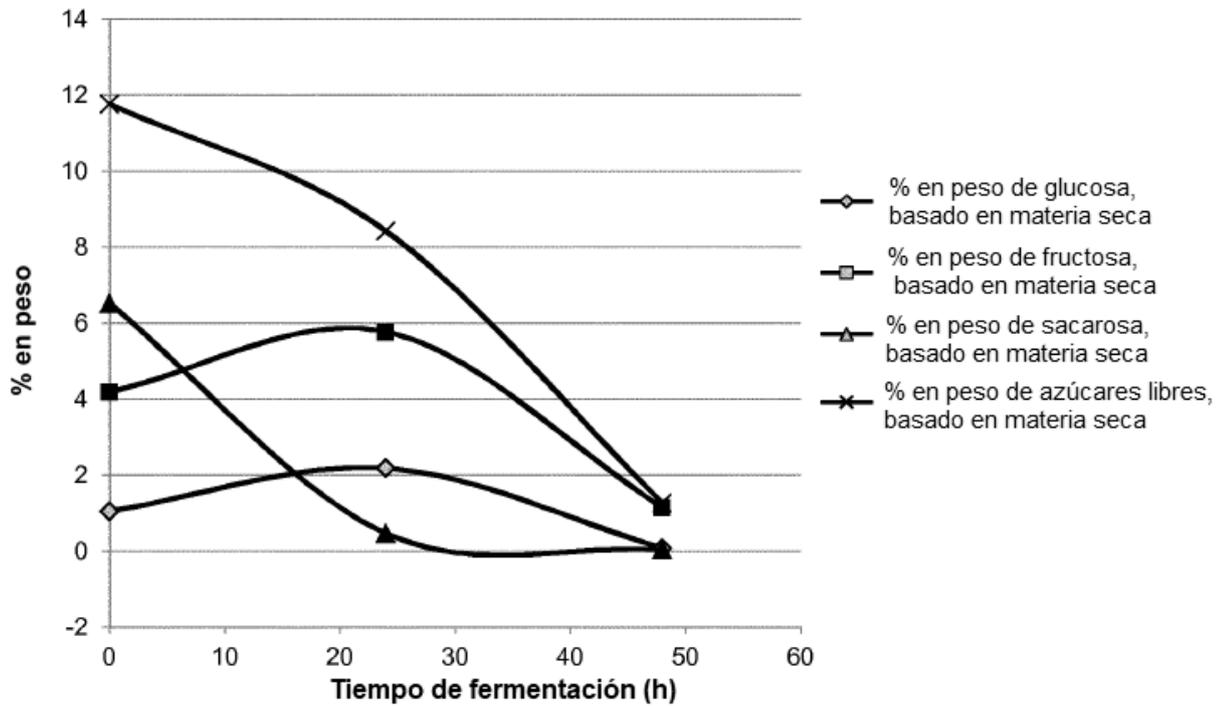


FIG. 21

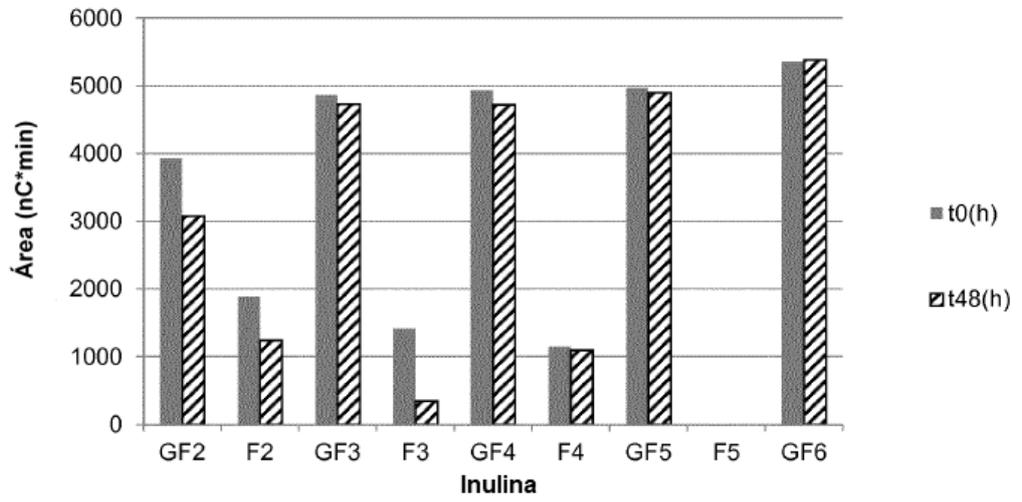


FIG. 22

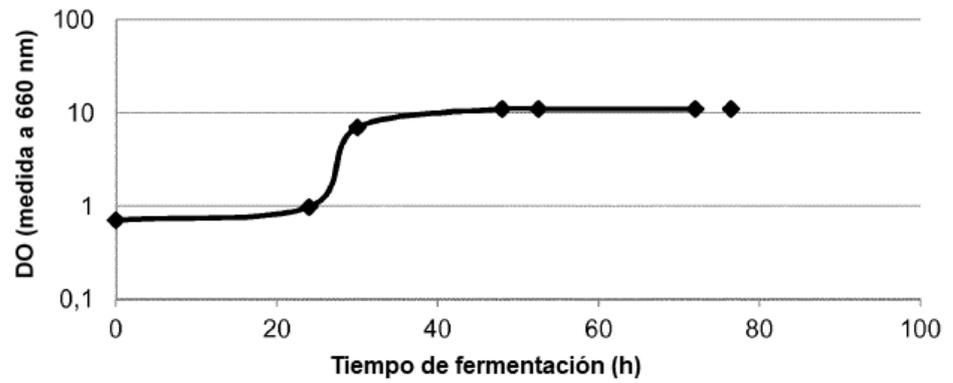


FIG. 23

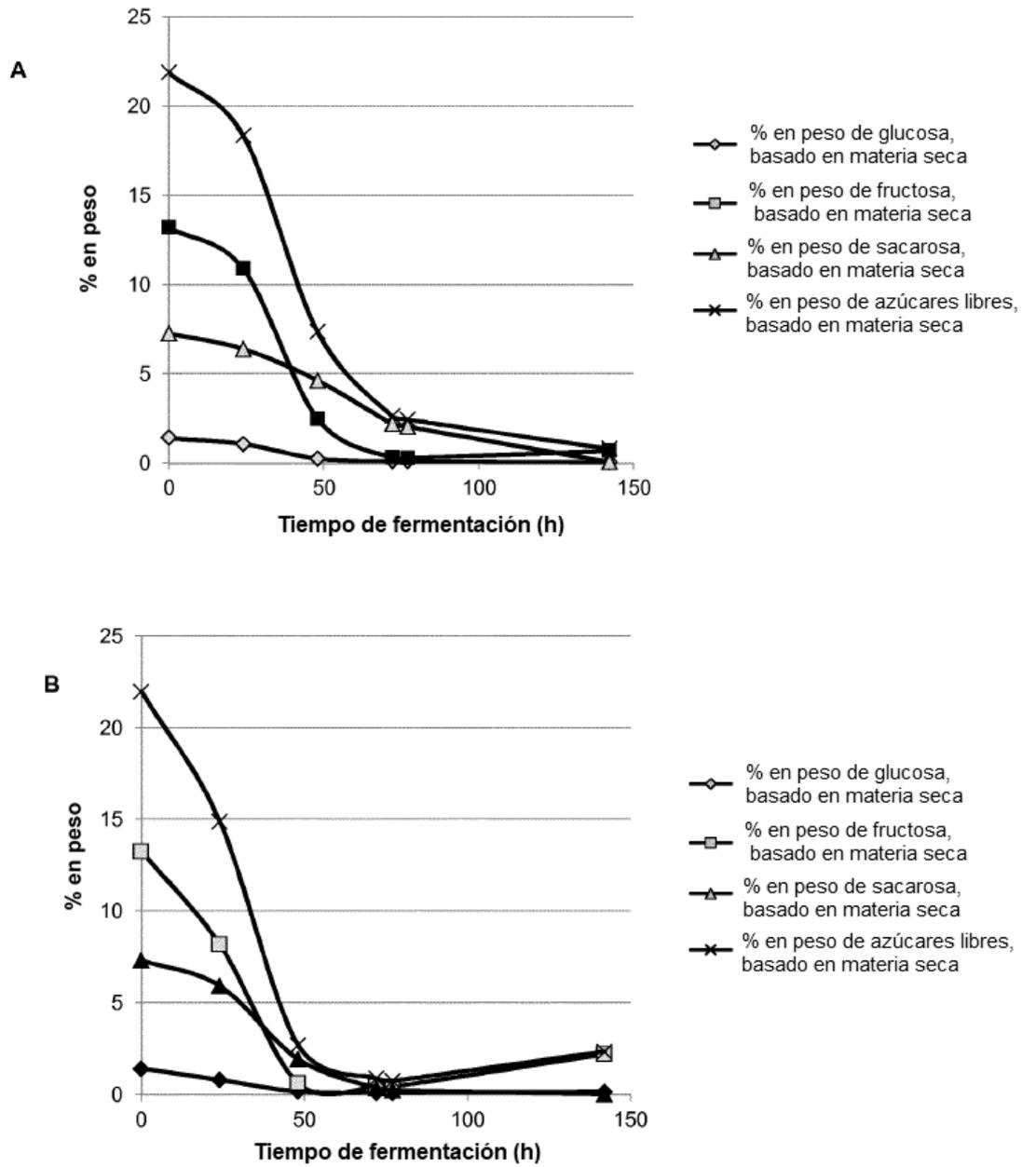
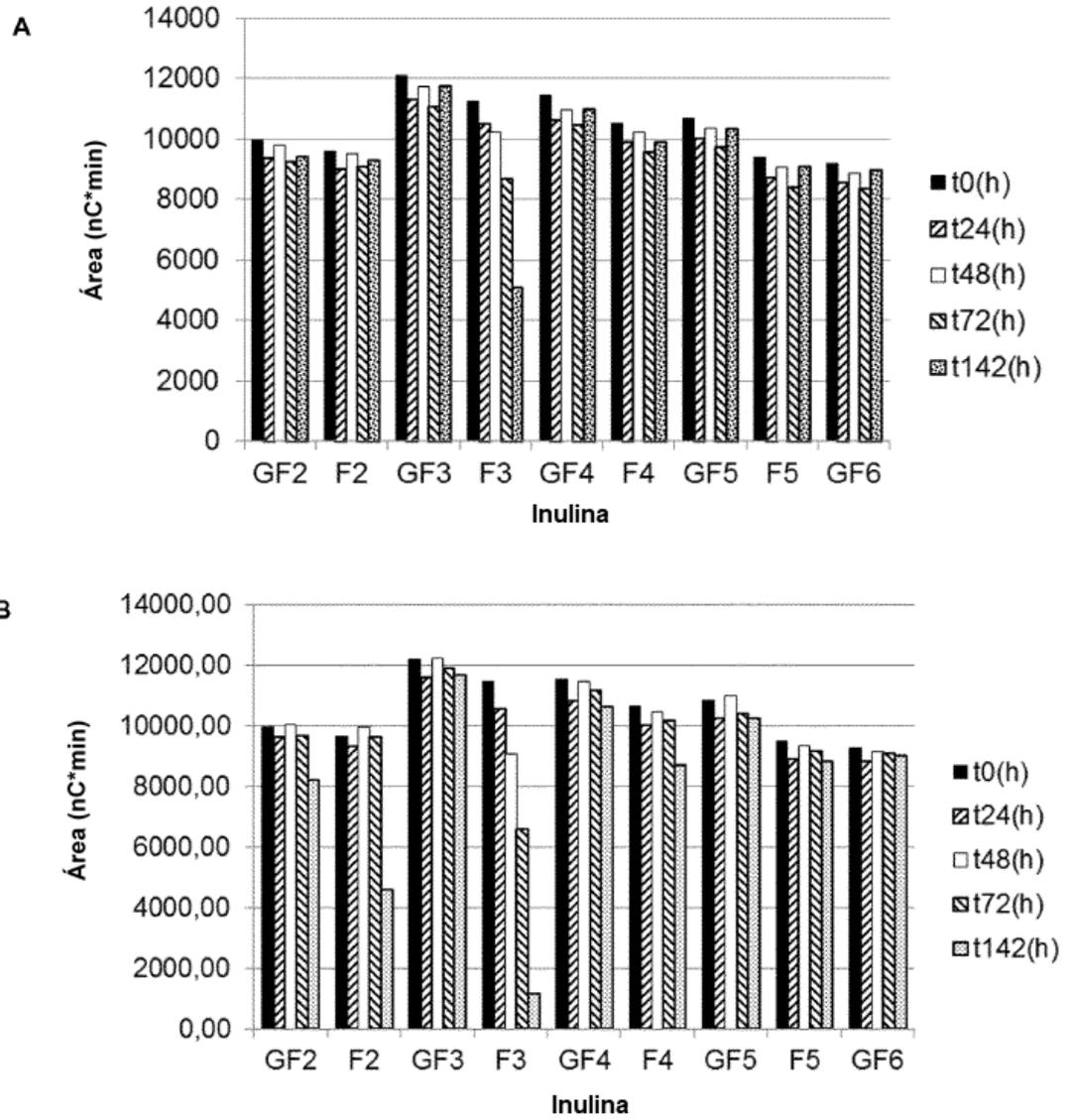


FIG. 24



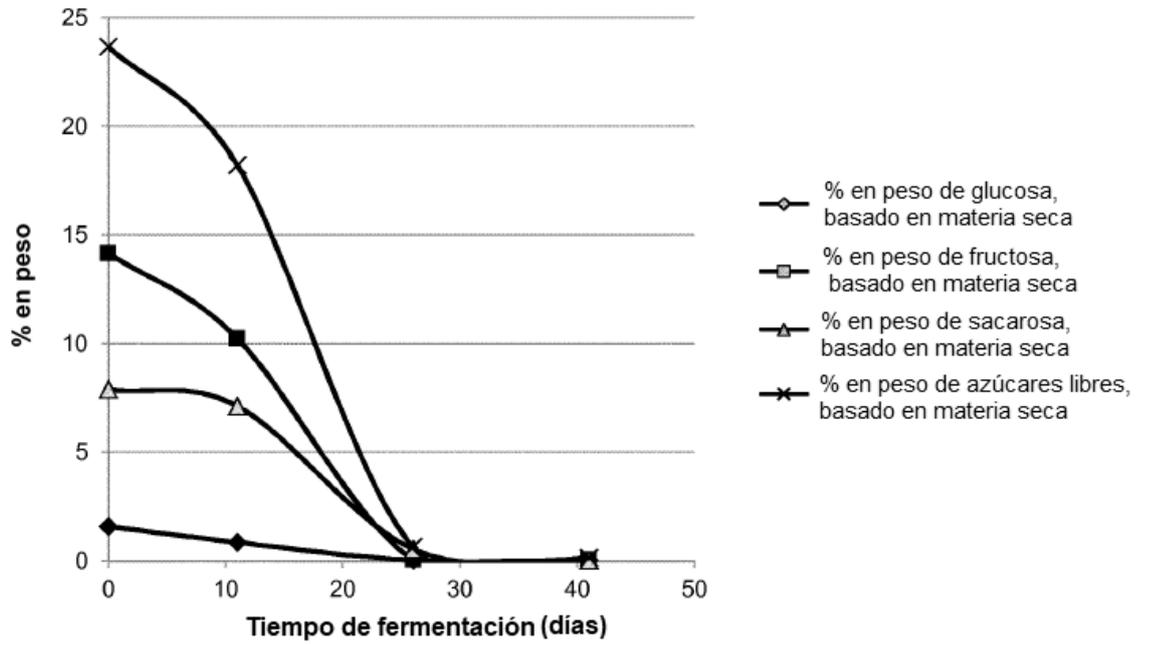


FIG. 26

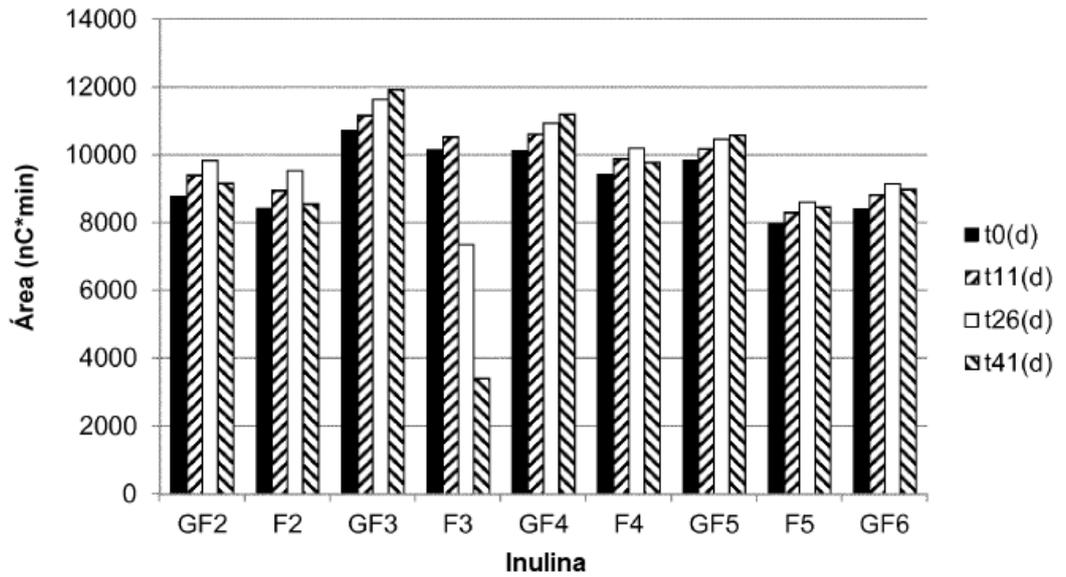


FIG. 27

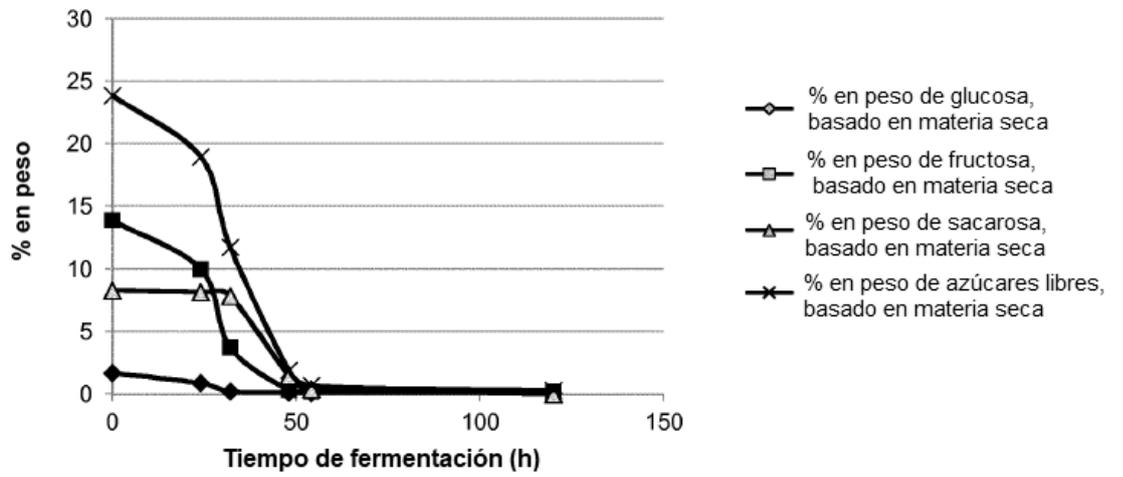


FIG. 28

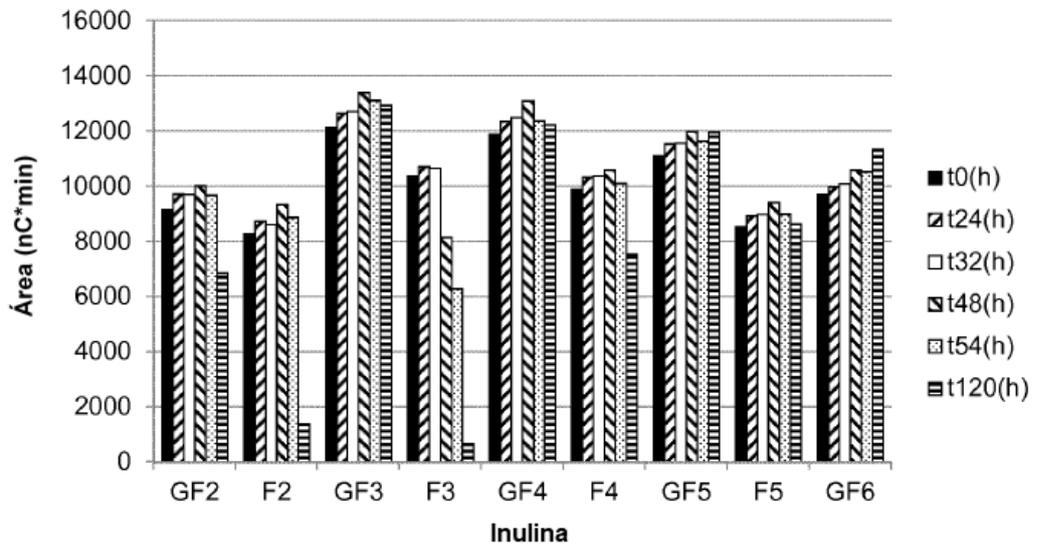


FIG. 29

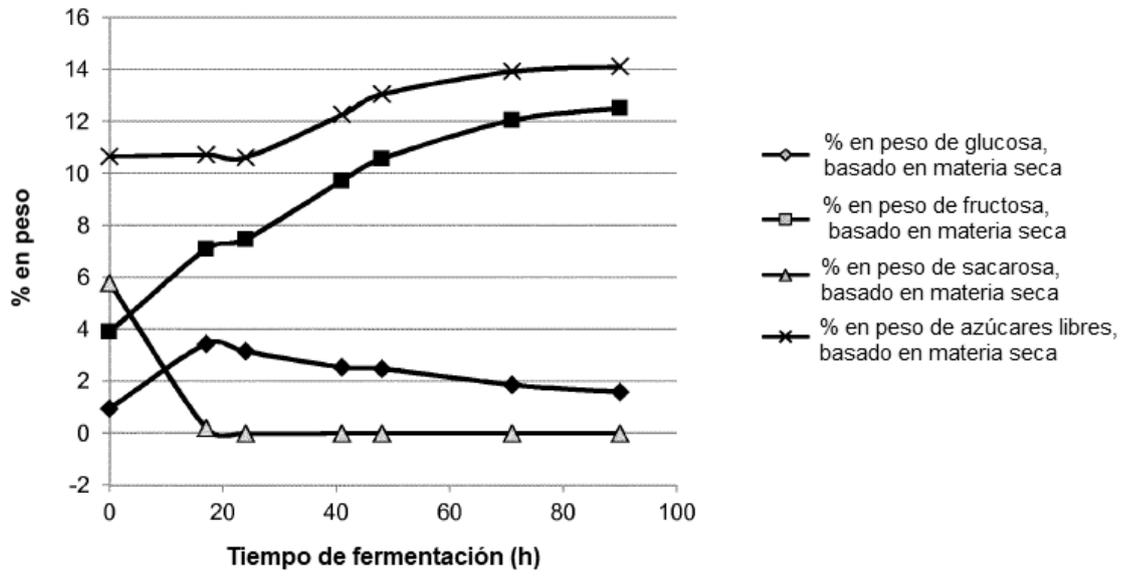


FIG. 30

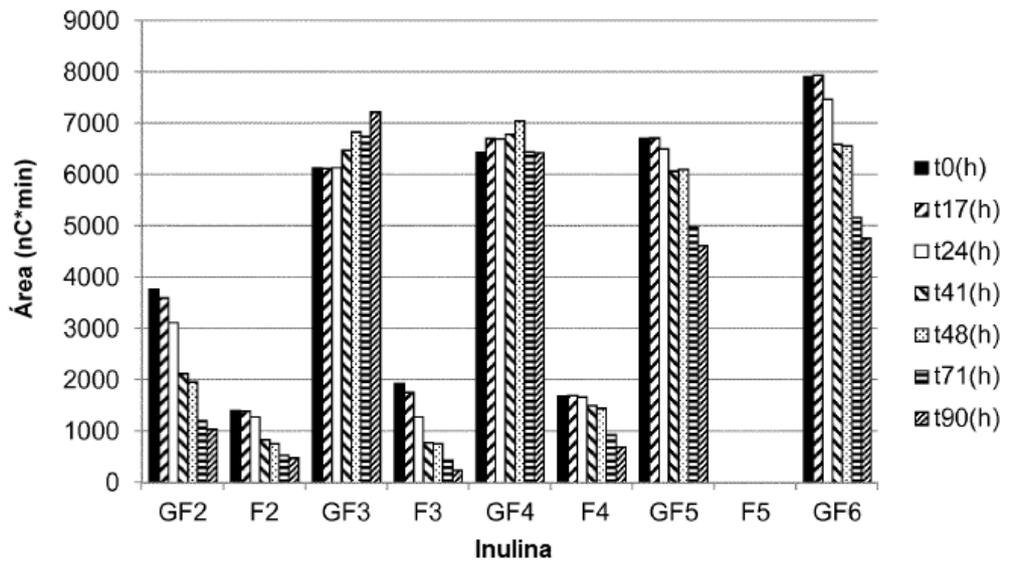


FIG. 31

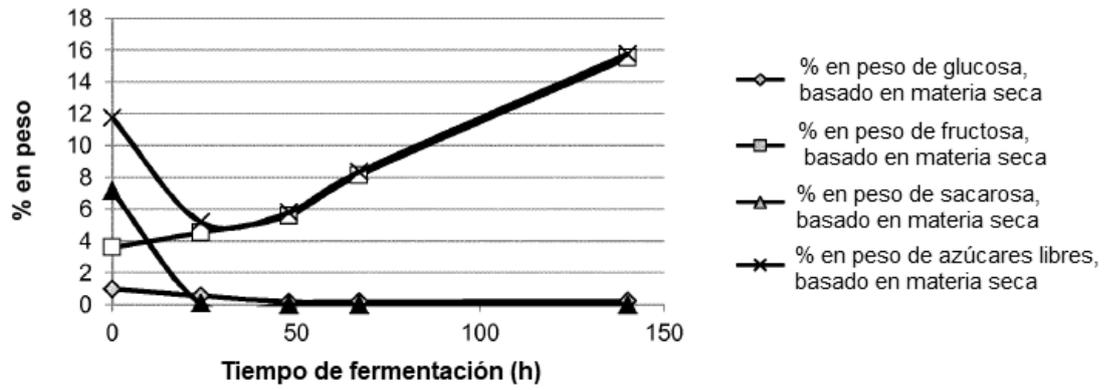


FIG. 32

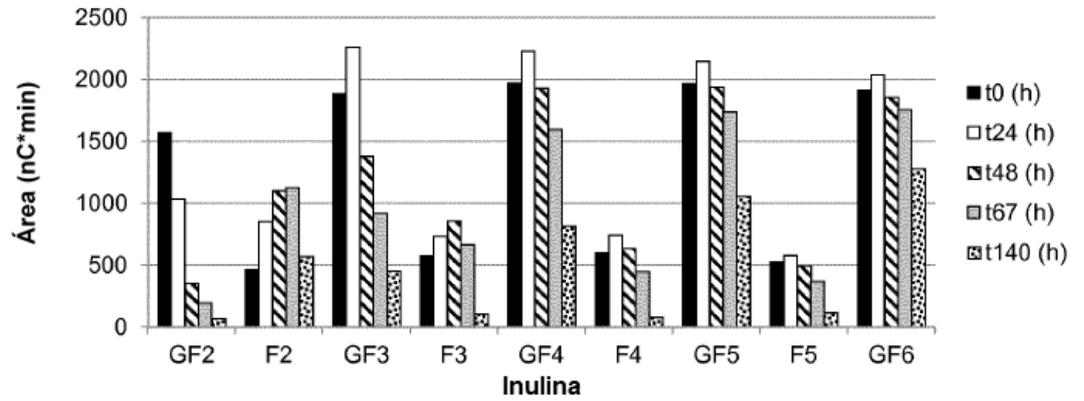


FIG. 33

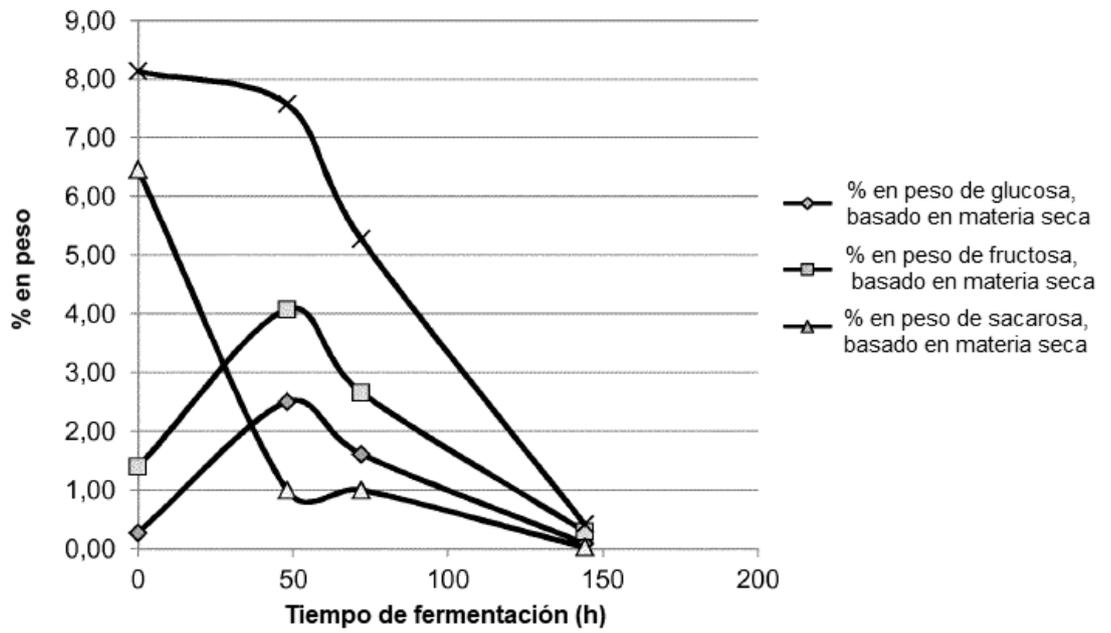


FIG. 34

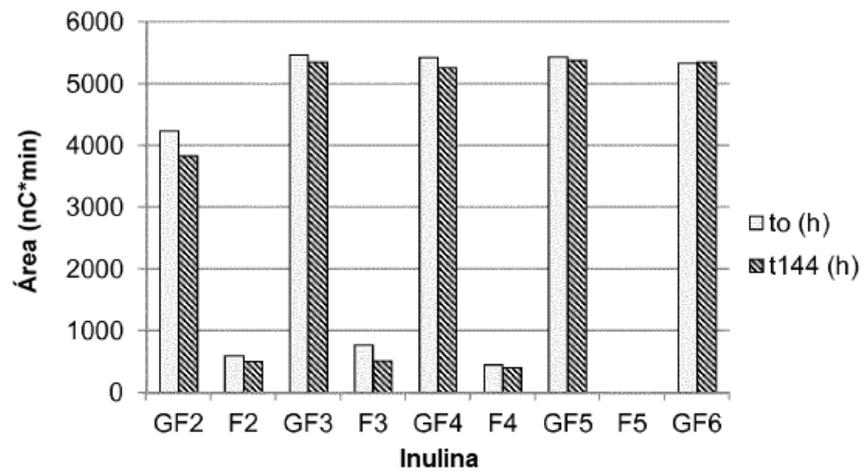


FIG. 35

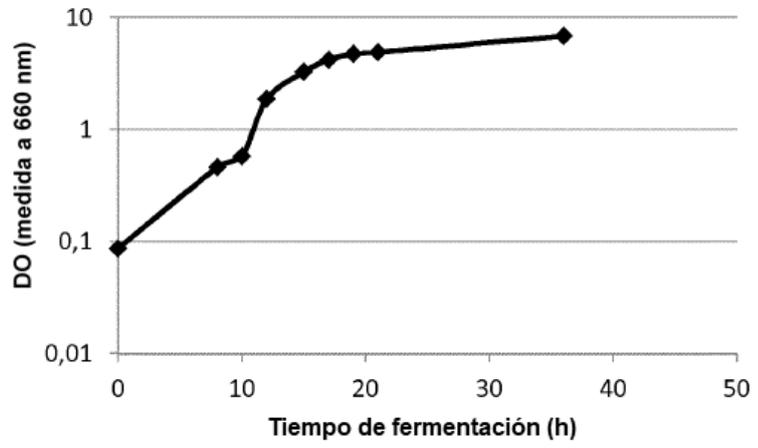


FIG. 36

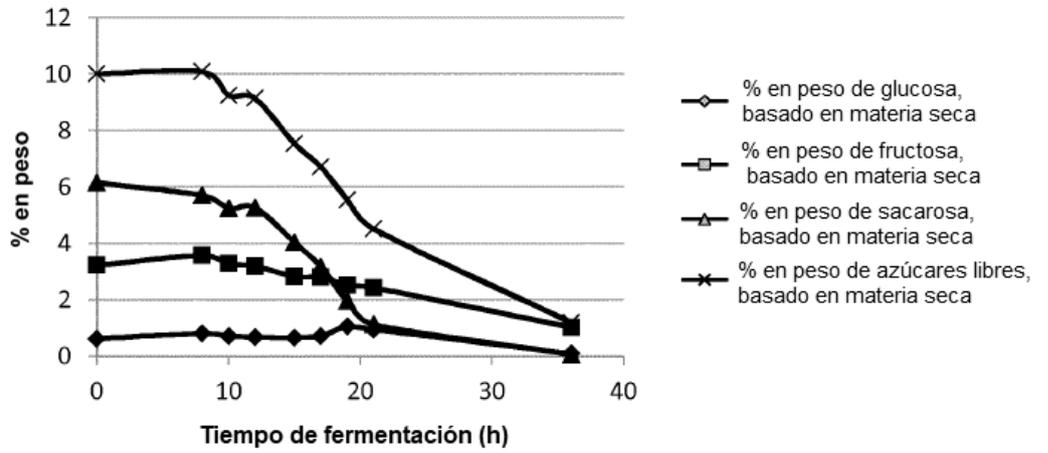


FIG. 37

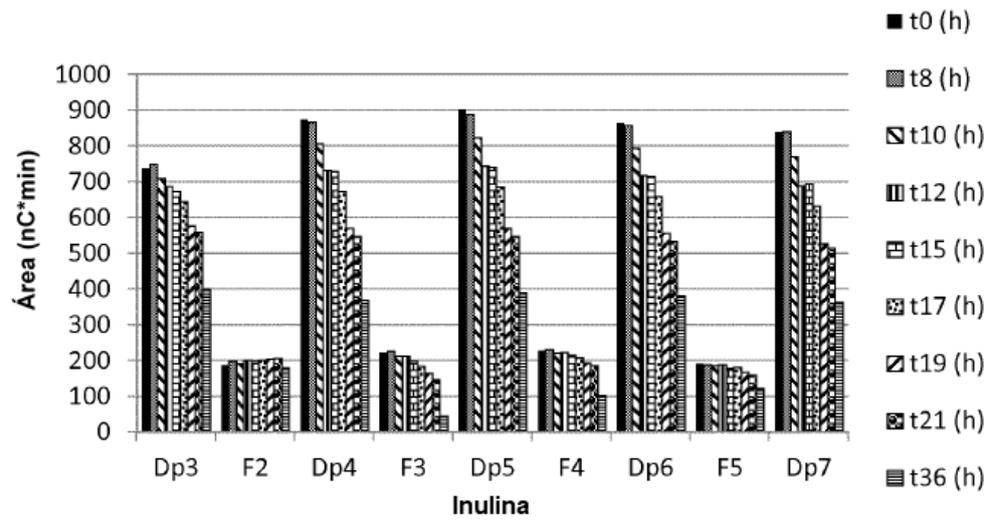


FIG. 38