

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2011-569

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

A23C 11/10 (2006.01)

A23C 9/13 (2006.01)

A23L 1/20 (2006.01)

A23L 2/38 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **14.09.2011**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **14.09.2011**

(33) Země priority: **CZ**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **27.03.2013**
(Věstník č. 13/2013)

(71) Přihlašovatel:

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego,
Warszawa, 02-532, PL

PLASTCOM, akciová společnost, Praha 7, CZ

(72) Původce:

Owczarek Lubomila, Warszawa, 03-982, PL

Jasińska Urszula T., Warszawa, 02-206, PL

Skapska Sylwia, Warszawa, 02-638, PL

(74) Zástupce:

Ing. Václav Kratochvíl, Tábořská 758/33, Mladá
Boleslav, 29301

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Způsob výroby synbiotického
fermentovaného sojového nápoje**

(57) Anotace:

Způsob výroby synbiotických fermentovaných sojových nápojů jako náhražky fermentovaných mlék - zejména v oblasti výživy osob se zvláštními dietami, zejména vyžadujícími vyloučení živočišných bílkovin a/nebo laktózy spočívá v tom, že ve vodném roztoku směsí 2 až 8 % hmotnostních disacharidu bez laktózy a 1,0 až 2,5 % hmotnostních fruktooligosacharidů, se tvoří suspenze směsí 2 až 7 % hmotnostních bílkovin sóji, 1 až 5 % hmotnostních maltodextrinu, 1 až 2 % hmotnostních sojového oleje, 0,5 až 1,5 % hmotnostních kukuřičného škrobu, 0,05 až 0,15 % hmotnostních kvasnicového extraktu, se očkuje monokultura *Streptococcus thermophilus* T_KM₃ v množství 0,0001 až 0,001 % hmotnostních koncentrované lyofilizované kultury a provádí se fermentace až do hodnoty pH nejvýše 4,6, dále je tento produkt fermentace doplněn *Bifidobacterium breve* KN65 nebo *Bifidobacterium breve* ATCC 15700 nebo *Bifidobacterium infantis* ATCC 15697 v množství 0,001 až 0,010 % hmotnostních koncentrované lyofilizované kultury, případně je výrobek smíchán s ovocnými přísadami pro mléčné jogurty, nejlépe s ananasovými nebo jahodovými nebo malinovými přísadami použitými ve výši 8 až 15 % hmotnostních.

Způsob výroby ^{M/}synbiotického fermentovaného sojového nápoje.

Oblast techniky

Předmětem vynálezu je způsob výroby ^{M/}synbiotických fermentovaných sojových nápojů jako náhražky kvašeného mléka - zejména pro osoby mající příslušné eliminační diety.

Dosavadní stav techniky

Proces mléčné kyselé fermentace je globálně používán pro výrobu mléčných nápojů a dalších mléčných výrobků. Nicméně, kysané mléčné produkty nejsou vhodné pro osoby, které jsou alergické na bílkoviny živočišného mléka a/nebo kteří nesnášejí laktózu. S ohledem na skutečnost příznivých účinků bakterií mléčného kvašení [Lacid Acid Bacteria - LAB] na člověka, zájem o výrobu nových výrobků prostřednictvím kyseliny mléčné fermentací roste, a to zejména pokud jde o bezmléčné výrobky, které jsou vhodné nejen pro zdravé hodnoty, ale také jsou schopny odhalit léčivé účinky, pokud tyto produkty jsou pozitivně vnímány ze strany spotřebitelů.

Patent č. EP 0988793 popisuje způsob výroby fermentovaného sojového mléka přidáním koagulačního činidla do sojového mléka, v závislosti na množství suché látky nebo bílkovin, ohříváním směsi až do teploty 70 až 80 °C po dobu 1 s až 10 min, sterilizací po dobu 2 až 4 s při 142 °C, homogenizací a fermentací kyseliny mléčné za použití běžně dostupných zahájení fermentace kyseliny mléčné. Produkt má pH 3,5 až 5,0 a má dobrou chuť, hladkou texturu v ústech, komplexnost, stejně jako osvěžující následnou chuť.

Patentová přihláška č. JP 2006094816 popisuje způsob výroby

kvašených nápojů spočívající v aplikaci koncentrovaného, odsoleného, případně oslazeného a sterilizovaného vodného extraktu sojových bobů na kyselinu mléčnou fermentací.

Patentová přihláška č. JP 2004305165 popisuje způsob výroby fermentovaného sojového mléka, který spočívá ve fermentaci sojového mléka přidáváním sojové mléko s enzymem hydrolytickou činnosti ve vztahu ke kyselině fytové. Výsledný nápoj, který může obsahovat látky pocházející z rozkladu kyseliny fytové, vykazuje dokonalou chuť s oslabenými známkami tvrdosti, stejně jako rostlinný či bylinný charakter odhaluje i hladkou strukturu a příjemné zažití.

Patent č. JP 3864712 popisuje způsob výroby proteinového nápoje ze sojové bílkovinné frakce, která je zbavena kyseliny fytové degradací na beta-conglycinin zde přítomný jako zdroj bílkovin umožňující zvýšenou rozpustnost při nízkých hodnotách kyselosti. Vlastnosti tohoto nápoje jsou: dokonalá chuť, vhodné přijímání v dutině ústní a vysoká stabilita.

Patentová přihláška č. EP 1575377 popisuje proces výroby sušené nutriční formule pro kojence na bázi proteinů pocházejících z různých zdrojů, včetně sóji, obsahující L(+) kyselinu mléčnou jako bakteriostatickou látku. Zde, z finančních důvodů, není stereo-izomer L(+) kyseliny mléčné, získáván jako výsledek mléčného kvašení, ale je představen do vzorce složení jako chemická přísada.

V posledních deseti letech je další rozvoj znalostí pozorován na

výhodách kvašení kyseliny mléčné - kromě obecně známých aspektů ochrany a smyslových účinků procesu.

Kyselina mléčná je hlavní produkt fermentace kyseliny mléčné, stejně jako důležitá součást ^Wsybiotického fermentovaného sojového nápoje. V současné výživě, zejména dětské výživě, je důraz kladen na formu kyseliny mléčné poskytnuté ve stravě. Od roku 1974, FAO/WHO [Food and Agricultural Organization/World Health Organization - Světová zdravotnická organizace) radí dospělým snížit spotřebu D(-) kyseliny mléčné, jednoho ze dvou přirozeně se vyskytujících stereo-izomerů kyseliny mléčné, až na méně než 100 mg denně. U fermentovaných výrobků pro děti, pouze připustil, formu kyseliny mléčné jako L(+) laktát. Přítomnost D(-) laktátu ve fermentovaných výrobcích pro kojence a určité skupiny dětí, se považuje za vysoce nežádoucí. To lze vysvětlit nízkou možností použít správně D(-) isomer kyseliny mléčné v dětském těle a riziko výskytu D(-) acidózy, zejména v populaci dětí se syndromem krátkého střeva, který je popsán v "Probiotic therapy in children with short bowel syndrome and bacterial overgrowth"[Yong R., Vanderhoof JA, Poster at the Annual Meeting of American Gastroenterology Association, 11-14 May, 1997, Washington DC, USA].

Většina druhů mikroorganismů je získána v potravinách fermentací průmyslově, včetně mnoha probiotických kultur, které patří do rodu *Lactobacillus* produkce D(-) isomeru kyseliny mléčné, na rozdíl od L(+) kyseliny mléčné, a tento efekt se odráží ve složení kvašeného konečného výrobku. K dispozici jsou znalosti popsané v Axelssonově publikaci [Axelsson L., Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In: Lactic Acid Bacteria. Microbial and Functional Aspects. Eds.: Salminen S., Wright von A., Ouhelander A., series of Food Science and Technology. Marcel Dekker, Inc, New York, Basel 2004, s. 1-66]

pro různé druhy specifických LAB predispozicí, v závislosti na typu laktátové dehydrogenázy (D-nLDH lub L-nLDH), přítomné v LAB aplikované při výrobě potravin fermentací, pro produkci dvou přirozeně se vyskytujících stereo izomerů v kvantitativních variantách: pouze L(+) isomer kyseliny mléčné, pouze D(-) isomer kyseliny mléčné, přibližně stejné množství obou izomerů nebo jejich směsi s převládajícím obsahem jednoho z izomerů, ale měřitelným obsahem druhého. Navíc, v případě fermentace s využitím některých kmenů LAB, víme, že fenomén závislosti indukce tvorby hroznovitého laktátu na vytvoření stereo-izomeru L(+) kyseliny mléčné, jehož výsledkem je postupující transformace L(+) na D(-) formu kyseliny mléčné, a tím i přítomnost směsi D(-) a L(+) formy kyseliny mléčné ve fermentačním produktu [Sakai K., Fujii N., Chukeatirote E., Racemisation L-lactic acid in pH-swing open fermentation of kachen rouse by selective proliferation of *Lactobacillus plantarum*. Journal of Bioscience and Bioengineering 2006, 102, 3, 227-232].

Nicméně výstup dvou isomerů formy kyseliny mléčné v důsledku fermentace, optická čistota těchto forem, a následné změny ve složení proporce silně závisí na takových faktorech, jako jsou: složení substrátu [Iino T. et al.; The effect of sodium acetate on the activity of L- and D- lactate dehydrogenases in *Lactobacillus sakei* NRIC 1071T and other lactic acid bacteria. J. Gen. Appl. Microbiology 2003, 49 (1): 51 až 58, stejně jako Hofvendahl K. & Hahn-Hagerdal B., L- Lactic acid production from whole wheat flour hydrolysate using strains *Lactobacilli* and *Lactococci*. Enzyme and Microbial Technology 1997, 20, 4, 301-307], fyzické podmínky inkubace [Qing-Jin et al. Effect of lactic acid bacteria on D- and L- lactic acid contents of kimchi. Food Science and Biotechnology 2006, 15, 6, 948-953] a způsob řízení s kvašenými produkty, např. přidáním přísad. [Lutomski

L., Znaczenie kwasu mlekowego i jego pochodnych w dietetyce i leczeniu (Význam kyseliny mléčné a jejích derivátů v dietetice a lékařství). In: Zastosowanie kwasu mlekowego i jego pochodnych (Aplikace kyseliny mléčné a jejích derivátů). Napsané: M. Jankiewicz, PTTŻ (Polskie Towarzystwo Technologów Żywności - Polská asociace potravinářských technologií) - Oddział Wielkopolski 1995, 59 až 71].

Na rozdíl od některých bakteriálních kmenů relativní anaerobní povahy, které patří do rodu *Lactobacillus* a *Streptococcus*, anaerobní bakterie - bifidobakterie jsou další prospěšné mikroorganismy ve střevech bioty, které hrají v organismu některé výhodné role a mohou také ovlivňovat soutěže s patogenními bakteriemi v zažívacím traktu. Tyto prospěšné mikroorganismy, které jsou schopny kolonizovat lidské střevní sliznice, jsou definovány jako probiotika. Mezi endogenními stimulatory těchto probiotických mikroorganismů jsou probiotické látky, dodávané do těla se stravou, jako jsou fruktooligosacharidy, např. inulin a další oligosacharidy např. obiloviny, luštěniny apod. Kombinace probiotik a prebiotik v potravinách, které vykazují synergické akce v těle, jsou definované jako synbiotika a jsou chápána jako odhalující intenzivní pro zdraví akce [Socha J., A. Stolarczyk, Socha P., Miejsce bifidobakterii w profilaktyce i leczeniu wybranych chorób wieku dziecięcego (Místo bifidobakterie v prevenci a léčbě vybraných dětských nemocí). *Pediatrica Współczesna, Gastroenterologia, Hepatologia i Żywienie Dziecka* (Současná pediatrie, hepatologie a dětská výživa) 2002, 4, 1, 43-47].

Podstata vynálezu

Cílem vynálezu je způsob výroby synbiotického fermentovaného sojového nápoje, který zajišťují smyslové uspokojení,

představuje zdroj prospěšných LAB a bifidobakterií na rozdíl od prebiotických látek, obsahujícího kyselinu mléčnou ve tvaru pouze L(+) stereo izomeru - a v důsledku toho umožňuje použití v lidské výživě bezpečně místo fermentovaného mléka, u dětí a dospělých - zejména těch, kteří mají alergie na mléčnou bílkovinu nebo nesnášenlivost laktózy.

Podstata způsobu podle vynálezu se týká výroby směsi sestávající z: 2 až 7 % hmotnostních sojové bílkoviny, 1 až 5 % hmotnostních maltodextrinu, 1 až 2 % hmotnostních sojového oleje, 0,5 až 1,5 % hmotnostních kukuřičného škrobu a 0,05 až 0,15 % hmotnostních kvasnicového extraktu, ve vodném roztoku směsi 2 až 8 % hmotnostních disacharidu (s výjimkou laktózy) a 1,0 až 2,5 % hmotnostních fruktooligosacharidů; tato suspenze se očkuje monokulturou *Streptococcus thermophilus* T_KM₃, v množství 0,0001 až 0,001 % hmotnostních koncentrované lyofilizované kultury a proces fermentace se provádí do hodnoty pH nejvýše 4,6. Biotum tohoto produktu fermentace je doplněn prostřednictvím kultury *Bifidobacterium breve* KN65 nebo *Bifidobacterium breve* ATCC 15700 nebo *Bifidobacterium infantis* ATCC 15697 v množství 0,001 až 0,010 % hmotnostních koncentrované lyofilizované kultury; nebo je výrobek nakonec smíchán se směsí s ovocem do mléka, jogurtů, kde jsou nejvýhodněji použity jako přísady ananas nebo jahody nebo maliny v množství 8 až 15 % hmotnostních.

Inkubace podle způsobu dle vynálezu se provádí při teplotě 30 až 43 °C.

Dva kmeny použité ve vynálezu, tj. *Bifidobacterium breve* ATCC 15700 a *Bifidobacterium infantis* ATCC 15697, jsou kultury American Type Culture Collection. Kmeny *Streptococcus thermophilus* T_KM₃ a *Bifidobacterium breve* KN65, pocházejí ze sbírky Ústavu živočišné reprodukce a potravinového výzkumu

Polské akademie věd (Instytut Rozrodu Zwierząt i Badania Żywności PAN) v Olsztyn.

Neočekávaně a výhodně, sojové přípravky vyrobené pomocí tohoto vynálezu prokazují, že jsou užitečné při výrobě L(+) isomeru kyseliny mléčné výlučně se *Streptococcus thermophilus* T_KM₃ startovacími kmeny.

Kromě toho, nečekaně a výhodně použití kultury patřící k rodu *Bifidobacterium* jako doplňku biotum kvašených nápojů se *Streptococcus thermophilus* T_KM₃, dokazuje, že nemá žádný vliv na přeměnu L(+) isomeru kyseliny mléčné obsaženého v kyselém nápoji.

Navíc nečekaně a výhodně bylo prokázáno, že oba kmeny souboru kultur použité ve vynálezu, jako startéry fermentace a mikrobiálního doplnění kysaného nápoje biotum, jsou schopny soužití a udržení kyseliny mléčné výhradně ve formě L(+) stereo izomeru při skladování 28 dní, finálního produktu při teplotě 4 °C. Stejně tak výhodně, jako nečekaně, bylo zjištění účinku na udržení celého bazénu mléčné kyseliny jako L(+) isomeru během chlazení nápojů po zavedení přísad ovoce do konečného výrobku. V obou výše uvedených případech bylo téměř 100 % vkladů L(+) isomeru na celkový obsah kyseliny mléčné v nápojích neměnných během 28 dnů chladírenské skladování.

Skutečný přínos, z pro zdraví vhodných vlastností, ^Wsybiotických fermentovaných sojových nápojů, závisí na jejich systematickém spotřebování a zaručuje spotřebiteli smyslové uspokojení. Toto uspokojení může být zajištěno pomocí způsobu výroby nápojů podle vynálezu, který zaručuje přijatelné smyslové hodnoty nápojů. Základem pro dobře vnímané smyslové profily, včetně textury symbiotického fermentovaného sojového nápoje, se vyvinul ze

vzorci kompaktní suspenze přípravy pro fermentaci, s odkazem na podstatu sojového mléka s obsahem sojové bílkoviny a oleje, ale zároveň se liší od složení sojového mléka jako směsi vysoce zpracovaných a čištěných složek neobsahujících kyseliny fytové a další látky, které jsou často považovány za kauzální faktory rozporuplně vnímaných fermentovaných sójových a zeleninových nápojů obecně. Nápoje, získané v souladu s vynálezem, jsou zbaveny vjemů typických pro konzumaci fermentovaných sójových mlék, charakterizovaných často jako štiplavé, kyselé nebo hořké příchutě.

Výhoda sóji zpracované fermentací, spočívá v jejím složení, které zajišťuje proces okyselení s efektivní koncentrací startovací kultury v přiměřené době - s udržením přijatelných smyslových profilů, vysoký počet bakteriálních buněk (ne méně než $7 \log \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$) a L(+) isomer kyseliny mléčné výhradně v konečných produktech během skladování 28 dnů při teplotě 4 °C.

Aplikace přísad ovocných příchutí umožňuje rozšíření sortimentu nápojů.

Vynález může být dále ilustrováno pomocí praktických postupů, které neomezují jeho rozsah.

Příklady uskutečnění vynálezu

Příklad 1

Sójový přípravek pro fermentaci byl zhotoven jako vodní suspenze složek - 5,2 % hmotnosti sušeného koncentrátu ve spreji bílkoviny z geneticky nemodifikované sóji (IP - Identity Preserved), 2,4 % hmotnostních maltodextrinu, 1,5 % hmotnostních sojového oleje, 0,7 % hmotnostních kukuřičného škrobu, 0,1 %

hmotnostních výtažek z kvasnic - ve vodném roztoku směsi 6,8 % hmotnostních sacharózy a 1,6 % hmotnostních ve sloučenině oligofruktózy a inulinu.

Toto suspenze byla pasterizována po dobu 10 minut při teplotě 92 až 95 °C, ochlazená na teplotu 37 °C, a naočkována kmenem *Streptococcus thermophilus* T_KM₃ pomocí 0,0005 % hmotnostních kultury. Fermentace byla provedena při teplotě 37 °C po dobu asi 12 hodin až do maximální hodnoty pH 4,6. Kmen *Bifidobacterium breve* KN65 ve formě koncentrované lyofilizované kultury byl přidán do zakysaného produktu ve výši 0,05 % hmotnostních.

Konečný výrobek byl nalit do jednotného skleněného obalu a umístěn v chladírně při teplotě 4 °C.

Tento ^m~~syn~~biotický fermentovaný sójový nápoj byl stabilní až do konce období 28 dnů skladování ve chladu s přihlédnutím k takovým parametrům jako je pH hodnota, titrační kyselost, obsah kyseliny mléčné, L(+) podíl stereoisomeru na celkovém obsahu kyseliny mléčné a vlastnostem smyslového profilu. Profil produktu byl dobře hodnocen i smyslově, s ohledem na chuť a texturu.

Během doby skladování se zvýraznila jemnou kyselá příchut nápoje, společně s vůní a chutí. Chuť, netypické pro fermentované sójové přípravky, jako jsou např. fermentovaná sojová mléka, byl charakterizován nejvíce jako harmonie sladkokyselé příchutě, stejně jako jogurtové příchutě. Textura je trvale hodnocena jako homogenní, středně hustá a hladká po celou dobu skladování.

Obsah LAB, která patří do rodu *Streptococcus* v čerstvém

zakysaném produktu, činil $8,0 \log \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$, tj. o 0,5 logaritmické fáze po 28 dnech skladování.

Počet populace bakteriální kultury, která patří do rodu *Bifidobacterium*, ve výši $8,0 \log \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ v nápoji po výrobě, klesl o 1 až 2 logaritmické fáze při skladování 28 dní.

Obsah kyseliny mléčné nápoje v průběhu skladovacího období byl konstantní a činil $0,380 \text{ g}/100 \text{ g}$, zatímco příspěvek L(+) stereoizomeru na celkový obsah kyseliny mléčné v produktu se nezměnil v chlazeném stavu a zůstával na výši 99 %.

Příklad 2

Sójový přípravek pro fermentaci byl zhotoven jako vodní suspenze složek: 4,4 % hmotnosti izolované frakce bílkoviny z geneticky nemodifikované sóji (IP), která vykazovala různé funkční vlastnosti, 2,8 % hmotnostních maltodextrinu, 1,0 % hmotnostních sojového oleje, 1,0 % hmotnostních kukuřičného škrobu, 0,1 % hmotnostních výtažek z kvasnic - ve vodném roztoku směsi 6,2 % hmotnostních sacharózy a 2,0 % hmotnostních inulinu.

Tato suspenze byla pasterizována po dobu 10 minut při teplotě 115°C , ochlazená na teplotu 40°C , a naočkována kmenem *Streptococcus thermophilus* T_KM₃ pomocí 0,0001 % hmotnostních kultury. Inkubace byla provedena při teplotě 40°C po dobu 10 hodin až do maximální hodnoty pH 4,6. Kmen *Bifidobacterium breve* ATCC 15700 ve formě koncentrované lyofilizované kultury byl přidán do zakysaného produktu ve výši 0,03 % hmotnostních.

Konečný výrobek byl nalit do jednotného skleněného obalu a umístěn v chladírně při teplotě 4°C .

Do konce skladování 28 denního období ve studeném stavu, si nápoj udržel stabilní hodnoty pH, titrační kyselosti, obsah kyseliny mléčné, L(+)príspevek isomeru na celkový obsah kyseliny mléčné, stejně jako vlastnosti smyslových profilů - během této doby se počet mikrobiálních populací v nápoji biotum mění v podobném rozsahu jako v příkladu 1.

Příklad 3

Sójový přípravek pro fermentaci byl zhotoven jako v příkladu 1. Kmen *Bifidobacterium infantis* ATCC 15697 byl přidán do fermentačního produktu ve formě koncentrované, lyofilizované kultury ve výši 0,02 % hmotnostních, poté byla kompozice asepticky smíchána s vhodnými ovocnými přísadami do jogurtů, např. ananas, jahody nebo maliny, ve výši 8 až 15 % hmotnostních.

Konečný výrobek byl nalit do jednotného skleněného obalu a umístěn v chladírně při teplotě 4 °C.

V tomto chladném stavu pro zdraví, ovocný typ, sójového nápoje obsahujícího kulturu LAB a střevní *Bifidobacterium* byl stabilní až do konce skladovacího období 28 dnů, s ohledem na takové parametry jako je pH, titrační kyselost, organoleptické vlastnosti profilu. Smyslové profily výrobku - hladká, polotekutá konzistence a dominantní tóny vůně a chutě ovocných přísad - byly dobře hodnoceny v průběhu celého období skladování.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Způsob výroby ^msybiotického fermentovaného sojového nápoje, spočívající v přípravě sojového přípravku fermentací, jeho tepelném zpracování a naočkování kmenem LAB, **vyznačující se tím, že** ve vodném roztoku směsi 2 až 8 % hmotnostních disacharidu (s výjimkou laktózy) a 1,0 až 2,5 % hmotnostních fruktooligosacharidů, se tvoří suspenze směsi 2 až 7 % hmotnostních sojové bílkoviny, 1 až 5 % hmotnostních maltodextrinu, 1 až 2 % hmotnostních sojového oleje, 0,5 až 1,5 % hmotnostních kukuřičného škrobu a 0,05 až 0,15 % hmotnostních kvasnicového extraktu, získaná směs se dále očkuje koncentrovanou lyofilizovanou mono-kulturou *Streptococcus thermophilus* T_KM₃ v množství 0,0001 až 0,001 % hmotnostních a provádí se fermentace, dokud hodnota pH není větší než 4,6, dále je ~~biotum tohoto~~ ^{ferment} fermentačního produktu doplněn koncentrovanou lyofilizovanou kulturou *Bifidobacterium breve* KN65 nebo *Bifidobacterium breve* ATCC 15700 nebo *Bifidobacterium infantis* ATCC 15697 v množství 0,001 až 0,010% hmotnostních, nebo se produkt případně smíchá s ovocnými přísadami do mléčných jogurtů, nejvýhodněji s ananasovými nebo jahodovými nebo malinovými přísadami, aplikovanými v množství 8 až 15 % hmotnostních.

2. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím, že** inkubace probíhá při teplotě 30 až 43 °C.