PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:
2003 - 153

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.[7]:
A 21 D 13/00
A 21 D 2/00
A 23 L 1/29

(19) ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **17.07.2001**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **19.07.2000 09.08.2000**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/0009456 2000/0010474**

(33) Země priority: **FR FR**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **18.06.2003**
(Věstník č. 6/2003)

(86) PCT číslo: **PCT/FR01/02323**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO02/005652**

(71) Přihlašovatel:
COMPAGNIE GERVAIS DANONE, Levallois-Perret, FR;

(72) Původce:
Teissier Philippe, Plaisir, FR;
Debru François, Versailles, FR;
Infantes Michel, Soissy-sur-Seine, FR;

(74) Zástupce:
Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha 1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:
Probiotický výrobek

(57) Anotace:

Pečené potravinářské výrobky obsahující aktivní kvasinky, způsob výroby pečených potravinářských výrobků obsahujících aktivní kvasinky, výrobky získatelné zmíněnými způsoby, probiotická směs na bázi tuků, obsahující aktivní kvasinky a způsob výroby zmíněné směsi a její použití.

CZ 2003 - 153 A3

19.03.03 PV 2003-153

Probiotický výrobek

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká pečených potravinářských výrobků, obsahujících živé kvasinky, způsobu výroby pečených potravinářských výrobků obsahujících živé kvasinky, produktů, které mohou být získány takovým způsobem výroby, probiotické směsi na bázi tuku s obsahem živých kvasinek i způsobu její výroby a také jejího použití.

Dosavadní stav techniky

Kvasinky a bakterie jsou mikroorganismy, které se běžně používají v agrárně potravinářském průmyslu a ve farmaceutickém průmyslu.

Usmrcené kvasinky mohou být použity zejména ve formě extraktů, jako zdroj vitamínů, minerálních látek, rozpustné vlákniny (beta-glukanů) a bílkovin (včetně esenciálních aminokyselin).

Živé kvasinky se běžně používají při pečení k vykynutí syrového těsta; jsou pak ovšem během pečení zničeny.

Určité kvasinky, jako například kvasinky patřící k rodu *Saccharomyces*, a zejména *S. cerevisiae* a *S. boulardii*, se využívají, pokud jsou požity živé a v dostatečném množství (10^4-10^9 kolonií na gram), pro svůj kladný účinek na hostitele. Zvláště se tak používají jak pro své přínosné působení na střevní flóru, tak i k posílení imunitní obrany hostitele.

Dříve již bylo popsáno zejména to, že uvedené kvasinky mohou být použity k léčbě pseudomembránové kolitidy (EP 0 149 579) nebo amebiáz (EP 0 195 870).

19.03.09

Takové kvasinky mohou být považovány za probiotika, přičemž tento název označuje živé mikroorganismy, které, pokud jsou požity v dostatečném množství, vykazují kromě běžných výživových účinků i kladný účinek na zdravotní stav. Šířeji tento název označuje potraviny, obsahující takové mikroorganismy.

Jako probiotika jsou známé rovněž bakterie kyseliny mléčné, jako například *Bifidobacterium* nebo *Lactobacillus* (a zvláště pak *L. acidophilus*).

Tyto bakterie se také široce používají jako probiotika v potravinářském průmyslu, zejména v mléčných výrobcích, zvláště pro svou schopnost regenerace střevní flóry během léčby antibiotiky nebo po takové léčbě.

Navrženy již byly různé techniky k ochraně bakterií ve zvláštních případech a k jejich ochraně před mnoha vnějšími vlivy, jako je vlhkost, obsah kyslíku, hodnota pH (jako pH žaludečního prostředí), které mohou mít škodlivé účinky na životnost těchto bakterií, zejména během průchodu střevy.

V patentu US 4 332 790 bylo tedy například navrženo opouzdření, enkapsulace dehydratovaných živých bakterií kyseliny mléčné do tukových mikrotobolek. Tuky, používané k realizaci takového opouzdření, jsou při teplotě lidského těla pevné a umožňují tak ochranu opouzdřených bakterií během průstupu střevy.

V patentové přihlášce WO 99/09839 byla ke stejnému účelu navržena rovněž pastovitá směs, jejíž základem jsou bezvodý tuk nebo bezvodá náhražka tuku a bakterie kyseliny mléčné.

Ovšem tyto postupy nebyly ještě nikdy použity pro kvasinky, neboť vzhledem k tomu, že jsou eukaryontními organismy, liší se jejich odolnost vůči působení různých vnějších vlivů od odolnosti bakterií kyseliny mléčné a postupy, používané pro bakterie kyseliny mléčné, nejsou pro kvasinky vhodné. V závislosti na svém použití mohou tedy být kvasinky citlivější k působení vnějších vlivů než bakterie kyseliny mléčné.

Navrženy byly i další techniky, určené pro transport a ochranu bakterií během průstupu střevy, a to zvláště v mezinárodní patentové přihlášce WO 96/08261, popisující nepečené (tepelně nezpracované) probiotické směsi (přípravky) na bázi bakterií a škrobu, které neplní pouze roli přenašeče mikroorganismů během průchodu střevy, ale také roli výživového substrátu pro tyto bakterie.

Přípravky, obsahující takové probiotické mikroorganismy, jsou obecně požívány jako takové nebo jinak začleněné do potravinářských výrobků, vyžadujících dosti přísné způsoby skladování, nejobvykleji na suchém místě bez změn teploty.

Kromě toho nebylo ještě nikdy navrženo použití takových miroorganismů v pečených (tepelně upravených) potravinářských výrobcích, neboť živé mikroorganismy a zejména živé kvasinky a bakterie nejsou schopné odolat pečení.

Přihláška EP 862 863 popisuje dehydratované cereální (obilninové) výrobky, jako jsou kukuřičné lupínky nebo pelety pro zvířecí krmivo, obsahující matrix, základní látku, tvořenou želírovaným škrobem, na jejíž povrch je adherován (přichycen) probiotický mikroorganismus. Po přípravě základní látky, probíhající za použití zejména postupů pečení a protlačování, se mikroorganismus sprejově rozprašuje na

povrch této základní látky a to ve formě vodného roztoku, tuku nebo bílkovinného hydrolyzátu, použitého jako dispergující činidlo.

Ovšem až do současnosti neexistuje potravina určená k okamžité konzumaci, která by obsahovala probiotické kvasinky a zachovávala jejich vlastnosti po dobu skladování v rozsahu několika měsíců při teplotě okolí, v komplexním médiu a/nebo po projití krokem tepelné úpravy (pečením).

Existence těchto obtíží znamená to, že nejsou známé žádné nedehydratované potravinářské výrobky s dlouhou dobou optimální použitelnosti (OUBD, long optimum use-by date), které by vykazovaly v podstatě stálý obsah živých kvasinek během celé doby skladování před konzumací. A vůbec už neexistují žádné pečené potravinářské výrobky, připravované za použití syrového těsta a obsahující živé kvasinky schopné odolat pečení, tak, aby pečené potravinářské výrobky po upečení stále obsahovaly živé kvasinky.

Pro spotřebitele je výhodné, pokud může přijmout probiotika obsažená v potravinářském výrobku s dlouhou dobou skladovatelnosti, který je snadno přenosný a konzumovatelný mimo hlavní jídlo, nebo ve formě, která je příjemnější než tobolky typu Ultra-Levure®.

Podstata vynálezu

Předmětem tohoto vynálezu je tedy probiotické potravinářské výrobky z pečeného (tepelně upraveného) těsta, volitelně obsahující alespoň jednu náplň a/nebo alespoň jeden litý obal (polevu), přičemž uvedené výrobky obsahují živé nebo životaschopné kvasinky a tyto výrobky se vyznačují tím, že zmíněné živé nabo životaschopné kvasinky jsou přítomny v tepelně upraveném těstu a/nebo v náplni a/nebo polévě uvedeného pečeného těsta.

19.03.03

Předmětem tohoto vynálezu jsou zejména tepelně upravené cereální výrobky, jejichž těsto po tepelné úpravě stále obsahuje živé nebo životaschopné kvasinky, s výhodou v řádu 10^4 až 10^9 kvasinek na gram tepelně upraveného výrobku pro počáteční zaočkování (inokulum) v řádu 10^6 až 10^{10} kvasinek na gram.

Kvasinky ve výrobcích podle tohoto vynálezu s výhodou nekvasí.

Předmětem předkládaného vynálezu jsou také tepelně upravené cereální výrobky, jejichž náplň a/nebo poleva obsahují živé nebo životaschopné kvasinky (s výhodou od 10^4 do 10^9 kolonií na gram).

Podle varianty předkládaného vynálezu jsou kvasinky podrobeny tepelné úpravě.

Tyto tepelně upravené potravinářské výrobky tudíž obsahují živé nebo životaschopné kvasinky a mohou tak být používány jako probiotické potraviny.

Výhodněji jsou těmito probiotickými potravinářskými výrobky chlebové výrobky, sušenky, cukrářské výrobky a výrobky typu vídeňských moučníků.

Tyto potravinářské výrobky mají tu výhodu, že obsahují dostatečné množství kvasinek, které zůstávají živé nebo životaschopné během období jejich skladovatelnosti, což umožňuje konzumovat je jako probiotika.

Uvedené pečené (tepelně upravené) potravinářské výrobky mohou být například ve formě dvou kotoučů nebo hranolů pečeného těsta, mezi nimiž je vložena náplň, obsahující živé nebo životaschopné kvasinky.

19.03.03

Předmětem předkládaného vynálezu je také způsob výroby pečeného probiotického potravinářského výrobku, obsahujícího živé nebo životaschopné kvasinky, který se vyznačuje tím, že alespoň jedna probiotická směs, vzniklá smícháním alespoň jednoho tuku a jedné živé nebo životaschopné kvasinky, se vloží do syrového nebo pečeného těsta a/nebo do náplně zmíněného syrového nebo pečeného těsta a/nebo do polevy (litého obalu) uvedeného syrového nebo pečeného těsta, přičemž tento způsob zahrnuje krok pečení.

Podle tohoto způsobu může tedy být probiotická směs vložena před krokem pečení nebo po něm.

Přítomnost alespoň jednoho tuku překvapivě umožňuje použitým živým nebo životaschopným kvasinkám:

- vydržet dlouhá období skladování při teplotě okolí před konzumací potravinářského výrobku, zejména tehdy, pokud jsou kvasinky vloženy do zmíněného výrobku po kroku pečení a pokud má tento výrobek nikoli nevýznamný obsah vody a obsahuje přísady, které mohou ovlivnit životaschopnost probiotických kvasinek, jako jsou příchutě, cukry, vitamíny, alkoholy a podobně;

- a/nebo odolat škodlivému účinku teploty, pokud jsou živé nebo životaschopné kvasinky do potravinářského výrobku vloženy před krokem pečení nebo během míchání kvasinek s jinými přísadami potravinářského výrobku, zejména s náplní, přičemž se toto míchání provádí při teplotě vyšší nebo rovnající se než 45 °C a zejména při teplotě přibližně od 55 do 60 °C.

Krok pečení se s výhodou provádí při teplotě přibližně od 150 °C do 300 °C a zvláště přibližně od 150 °C do 240 °C, po dobu přibližně

19.03.03

3 až 40 minut, přičemž teplota ve středu pečeného výrobku musí zůstat taková, aby nepřevýšila 90 °C až 100 °C.

Podle upřednostňovaného ztělesnění způsobu výroby podle tohoto vynálezu se vložení probiotické směsi do syrového těsta a/nebo do náplně s výhodou provádí před krokem pečení.

Nadto, pokud se probiotická směs vkládá do náplně pečeného těsta, provádí se takové vložení s výhodou při teplotě větší než 45 °C nebo rovnající se takové teplotě, anebo konkrétněji přibližně při 50 °C až 60 °C.

Způsob výroby podle tohoto vynálezu zejména umožňuje kvasinkám odolat teplotám přibližně mezi 80 °C a 100 °C a to po dobu alespoň 20 minut.

Způsob výroby podle tohoto vynálezu tedy umožňuje získání pečených výrobků na bázi rostlinných surovin a konkrétněji cereálních (obilných) nebo luštěninových výrobků, obsahujících kvasinky, které jsou udržovány v životaschopné formě během období skladování výrobků a po pozření mohou být revitalizovány (oživeny) ke splnění své funkce probiotika v organismu.

Tuky, které lze použít podle tohoto vynálezu, mohou být rostlinného nebo živočišného původu.

Tuk či tuky, použitý či použité podle předkládaného vynálezu, může být přítomen či mohou být přítomné v množství alespoň 40 %, lépe pak alespoň 50 % hmotnostních vzhledem k celkové hmotnosti směsi; výhodně tedy představují 70 % hmotnostních až 99,9999 % hmotnostního celkové hmotnosti zmíněné probiotické směsi odolné vůči pečení a ještě lépe od 90 % hmotnostních do 99,9999 % hmotnostního.

19.03.03

Podle konkrétního ztělesnění způsobu výroby podle tohoto vynálezu a pokud jsou kvasinky vkládány přímo do syrového těsta před krokem pečení, jsou použité tuky s výhodou zvoleny z tuků, majících teplotu tání (Mp, melting point) vyšší než 20 °C a ještě lépe vyšší než 25 °C.

Podle tohoto vynálezu je výraz "teplota tání" zamýšlen k označení teploty, při níž všechen tuk taje, přičemž rozmezí tání, v němž tuk začíná tát, je širší.

Podle tohoto vynálezu je možné použít kterýkoliv tuk, mající teplotu tání vyšší než 20 °C; ovšem podle výhodného ztělesnění předkládaného vynálezu je teplota tání použitého tuku či použitých tuků vyšší než 30 °C nebo rovnající se této hodnotě a ještě výhodněji je vyšší než 35 °C nebo rovnající se této teplotě.

Podle ještě výhodnějšího ztělesnění předkládaného vynálezu je tato teplota v rozmezí od 45 °C do 60 °C.

Z tuků rostlinného původu mohou být zvláště zmíněny hydrogenované nebo nehydrogenované, frakcionované nebo nefrakcionované, esterifikované nebo neesterifikované tuky, jako jsou stearový palmový olej o teplotě tání 35 °C, palmové oleje o teplotě tání 45 °C a 58 °C, kokosové máslo, arašídové máslo, palmojádrový olej, kopra, jako hydrogenovaná kopra o teplotě tání 32 °C, potravinářské vosky, které jsou komplexními směsmi esterů mastných kyselin s dlouhými řetězci a alkoholů, jako je karandrový vosk (carandra wax) o teplotě tání 80 °C až 85 °C a mikrokrystalický vosk pocházející z ropy, stejně jako směsi takových látek.

19.03.03

Podle předkládaného vynálezu se zvláště upřednostňují palmové oleje o teplotě tání 45 °C a 58 °C, hydrogenovaná kopra o teplotě tání 32 °C a jejich směsi.

Z tuků živočišného původu je možné zmínit zejména lůj, sádlo, hydrogenované oleje, mořské oleje jako jsou rybí oleje a oleje z kytovců, potravinářské vosky, které jsou komplexními směsmi esterů mastných kyselin s dlouhými řetězci a alkoholů, jako je včelí vosk (o teplotě tání 60 °C až 65 °C) a směsi takových látek.

Jako tuky je možné použít také nízkokalorické náhražky tuků, jako výrobky Benefat® a Olestra®.

Podle jiné varianty způsobu výroby podle předkládaného vynálezu, a pokud jsou kvasinky přítomny v syrovém či pečeném těstu nebo v jeho náplni, je možné použít různé typy tuků a to v závislosti na hodnotě Aw (aktivitě vody, water activity) zmíněné náplně:

- v případě náplní, majících vysokou hodnotu Aw (Aw ≥ 0,7: vodné náplně) se s výhodou používá alespoň jeden tuk, mající teplotu tání vyšší než 20 °C a s výhodou vyšší než 30 °C, jako jsou tuky, definované výše;

- v případě náplní, majících nízkou hodnotu Aw (Aw = 0,1 až 0,35), mohou být kromě tuků, majících teplotu tání vyšší než 20 °C jako jsou ty, uvedené výše, použity také tuky, mající teplotu tání nižší než 20 °C nebo rovnající se této hodnotě, jako je například olivový olej, řepkový olej, sojový olej, slunečnicový olej, palmový olej nebo olej z hroznových semen.

19.03.03

Podle ještě jiné varianty tohoto způsobu a pokud je náplň mastná sama o sobě a má nízkou hodnotu Aw, není použití přídavného tuku, jak byl definován výše, nezbytné a kvasinky pak mohou být do zmíněné tukové náplně vloženy přímo, například jako jednoduchá disperze.

Podle jedné varianty předkládaného vynálezu může způsob výroby před pečením obsahovat krok sušení syrového těsta. Takové sušení se s výhodou provádí po dobu 5 až 60 minut, při teplotě s výhodou mezi 20 °C a 42 °C a ještě výhodněji při teplotě vyšší než 25 °C.

Syrové těsto, používané ve způsobu výroby podle předkládaného vynálezu, obecně obsahuje několik přísad s výhodou zvolených z mouky, vajec, mléka, cukrů a nízkokalorických cukerných náhražek, vody, sole, kvasnic, emulgátorů, tuků a nízkokalorických tukových náhražek, příchutí, strukturačních činidel, vitamínů, zahušťovadel, potravinářských barviv a podobně.

Náplněmi syrového těsta mohou být vodné náplně nebo tukové náplně.

Vodné náplně mohou obsahovat zejména vodu, cukry, mléko, zahušťovadla, barviva, příchutě a podobně.

Tukové náplně mohou zejména obsahovat tuky, kakao, cukry, mléko, zahušťovadla, barviva, příchutě a podobně.

Kvasinky, používané podle předkládaného vynálezu, jsou živé nebo životaschopné (v klidové formě).

Podle zvláště výhodného ztělesnění předkládaného vynálezu se používají kvasinky rodu *Saccharomyces* (podle klasifikace Barnetta a spoluautorů; Yeasts: Characterization and Identification, 2000, 3.

19.03.03

vydání, Cambridge University Press), který zahrnuje mnoho druhů, z nichž je možné zmínit *S. cerevisiae* (a mnoho jeho variant včetně *S. boulardii*), *S. bayanus*, *S. pastorianus*, *S. paradoxus*, *S. dairensis*, *S. exiguus*, *S. kluyverii*, *S. servazii*, *S. unisporus* a *S. castellii* a jejich poddruhy. Používané kvasinky mohou být zvoleny také z určitých kvasinek rodu *Kluyveromyces*, jako *K. lactis* nebo *K. marxianus* (a mnoha jeho variant jako *K. kefir*).

Kvasinky mohou být použity v dehydratované formě, nebo ve formě kvasného média. Podle tohoto vynálezu se upřednostňuje použití v dehydratované formě.

Kvasinky mohou být dehydratovány běžnými metodami dehydratace, jako je atomizace, lyofilizace nebo dehydratace ve fluidním loži. Tyto techniky ve skutečnosti umožňují uchování kvasinek v životaschopné formě.

Během této dehydratace není nezbytné úplně oddělit kvasinky od použitého kultivačního média, neboť je možné ho částečně dehydratovat současně s kvasinkami.

Kvasinky s výhodou představují od 0,0001 % hmotnostního do 30 % hmotnostních celkové hmotnosti probiotické směsi, používané ve způsobu podle předkládaného vynálezu a ještě konkrétněji představují od 0,0001 % hmotnostního do 15 % hmotnostních takové celkové hmotnosti.

Uvedené množství může být také vyjádřeno v množství kolonií na gram (nebo jednotek vytvářejících kolonie na gram: CFU/g) a s výhodou odpovídá množství kvasinek od 10^4 CFU/g do 10^9 CFU/g a ještě konkrétněji od 10^4 do 10^8 CFU/g směsi.

19.03.03

Podle upřednostňovaného ztělesnění předkládaného vynálezu může probiotická směs podle tohoto vynálezu kromě použitých kvasinek obsahovat také bakterie, jako jsou například bakterie přirozeně se vyskytující ve střevní flóře, například bakterie kyseliny mléčné, z nichž je možné zmínit bakterie rodů *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Peptostreptococcus* a *Lactobacillus*.

Pokud jsou použity, představují tyto bakterie s výhodou 0,0001 % hmotnostního až 30 % hmotnostních celkové hmotnosti probiotického prostředku použitého podle předkládaného vynálezu a ještě konkrétněji 0,0001 % hmotnostního až 15 % hmotnostních takového prostředku. Toto množství může být rovněž vyjádřeno jako počet jednotek vytvářejících kolonie (CFU) a s výhodou odpovídá množství bakterií od 10^4 CFU/g do 10^9 CFU/g a ještě lépe od 10^4 do 10^8 CFU/g prostředku.

Kultury kvasinek a bakterií, které mohou být použity ve způsobu podle tohoto vynálezu, jsou vyráběny běžným způsobem, sestávajícím například ze zaočkování kvasinek a/nebo bakterií ve vhodném kultivačním mediu a z inkubace takto zaočkovaného média v inkubátoru pod dobu dostatečně dlouhou ke správnému vývoji uvedených mikroorganismů, které je pak možné z kultivačního média oddělit, například odstředěním.

Předmětem tohoto vynálezu jsou také pečené probiotické potravinářské výrobky, které lze získat způsobem výroby podle předloženého vynálezu, jak bylo popsáno výše.

Tyto probiotické potravinářské výrobky jsou v podstatě charakterizovány tím, že obsahují probiotické množství živých nebo životaschopných kvasinek, obecně vyšší než 10^2 CFU/g, s výhodou od 10^4 do 10^9 CFU/g pečeného výrobku a tyto kvasinky jsou přítomné v

19.03.03

pečeném těstu a/nebo v náplni a/nebo v polévě uvedených potravinářských výrobků.

Množství živých nebo životaschopných kvasinek v pečeném probiotickém potravinářském výrobku, který lze získat způsobem podle předkládaného vynálezu, je s výhodou od 10^4 do 10^8 CFU/g pečeného výrobku.

Předmětem vynálezu jsou také určité probiotické prostředky, které mohou být použity k provádění způsobu výroby podle tohoto vynálezu.

V této souvislosti je předmětem předkládaného vynálezu zejména probiotická směs, obsahující alespoň jeden tuk mající teplotu tání (Mp) vyšší než 20 °C a alespoň jeden typ živých nebo životaschopných, s výhodou dehydrovaných kvasinek, vyznačující se tím, že je odolná vůči pečení a pevná při teplotě místnosti, tím, že v ní kvasinky představují 0,0001 % hmotnostního až 30 % hmotnostních vzhledem k celkové hmotnosti směsi a tím, že neobsahuje škrob. Podle výhodného ztělesnění tohoto vynálezu kvasinky představují ještě konkrétněji 0,0001 % hmotnostního až 15 % hmotnostních celkové hmotnosti probiotické směsi.

V této směsi je hmotnostní poměr tuku a kvasinek s výhodou vyšší než 4 : 10 a ještě výhodněji vyšší než 5 : 10.

Tato probiotická směs je zejména ve formě špalíků, plátků, hoblinek, perliček, kostiček, mikrotobolek nebo jakékoliv jiné formy, vhodné pro potahování nebo opouzdření kvasinek, které obsahuje.

Předmětem tohoto vynálezu je rovněž způsob výroby probiotické směsi podle předkládaného vynálezu, vyznačující se tím, že zahrnuje kroky, při nichž se v prvním kroku zkapalní alespoň jeden tuk mající

19.03.03

teplotu tání vyšší než 20 °C při teplotě vyšší než je teplota tání zmíněného tuku či tuků, v druhém kroku se ke zmíněnému roztavenému tuku nebo tukům přidají živé nebo životaschopné, s výhodou dehydratované kvasinky, s výhodou za míchání a poté se ve třetím kroku takto získaná kapalná směs ochladí na teplotu nižší než je teplota tání zmíněného tuku či tuků, k získání pevné směsi.

Zmíněná směs pak může být rozdělena na části o různé velikosti a tvaru, jako jsou špalíky, hoblinky, perličky, kostky a podobně.

Podle varianty tohoto způsobu může být kapalná směs, jak byla definována výše, uvedena do formy páry na vršku komory, v níž je teplota nižší než teplota tání tuku či tuků obsažených v kapalné směsi, tak, aby byly vytvářeny mikrotobolky, které jsou následně shromážděny.

Předmětem tohoto vynálezu je také použití alespoň jedné probiotické směsi odolné vůči pečení, s výhodou pevné při teplotě místnosti, obsahující alespoň jeden tuk o teplotě tání vyšší než 20 °C jak byl definován výše a alespoň jeden typ živých nebo životaschopných kvasinek, jako potravinářské přísady k výrobě syrových nebo pečených probiotických potravinářských výrobků.

Probiotická směs podle předkládaného vynálezu může být začleněna, a to předtím, než je probiotický potravinový výrobek pečen, do syrového těsta a/nebo do náplně určené k ozdobení zmíněného syrového těsta a/nebo do polevy (litého obalu)..

Probiotická směs podle předkládaného vynálezu může být rovněž použita jako probiotická potravinářská přísada v náplňových nebo obalových směsích pro syrové potravinářské výrobky a může být do těchto výrobků začleněna po upečení. V posledně uvedeném případě jsou kvasinky obsažené ve směsi rovněž schopné odolat škodlivému

19.03.03

účinku různých vnějších faktorů, jako jsou vlhkost, obsah kyslíku, pH, přísady podle předpisu pro konečný výrobek, jako jsou například příchutě a alkoholy.

Kromě výše uvedených uspořádání vynález rovněž zahrnuje jiná uspořádání, která budou zřejmá z následujícího popisu, týkajícího se příkladů výroby probiotických směsí a příkladů výroby probiotických potravinářských výrobků s pečeným těstem.

Bude však jasně zřejmé, že tyto příklady jsou uváděny pouze pro dokreslení předmětu vynálezu a žádným způsobem ho nemají omezovat.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1: výroba probiotických směsí

Použité dehydratované kvasinky: *S. cerevisiae* (prodávané pod názvem Saf Instant® firmou Lessafre)
S. bayanus (odkaz IOC18-2007; sbírka v Institut National Agronomique, Paris Grignon)

Použité tuky: Stearový palmový olej (teplota tání = 35 °C)
Palmový olej (teplota tání 45 °C)
Palmový olej (teplota tání 58 °C)

Následujícím způsobem bylo připraveno 6 probiotických směsí podle předkládaného vynálezu:

Olej se zkapalní při teplotě 90 °C. Jakmile se teplota takto zkapalněného oleje vrátí do teplotního rozmezí od 60 °C do 35 °C,

19.03.03

začne olej postupně tuhnout. Poté se na 99 g oleje přidá množství 1 g kvasinek při 10^{10} CFU/g a opatrně se smísí.

Směs se poté ochladí v lázni tvořené ledovou vodou.

Jakmile medium ztuhne, krájí se do formy hoblinek.

Šest probiotických směsí ve formě hoblinek, které byly tímto způsobem připraveny, vykazovalo charakteristiky, uvedené níže v Tabulce I:

Tabulka I

Směs (v g)	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
S. cerevisiae	1	1	1	-	-	-
S. bayanus	-	-	-	1	1	1
Stearový palm.olej Mp = 35 °C	99	-	-	99	-	-
Palm.olej Mp = 45 °C	-	99	-	-	99	-
Palm.olej Mp = 58°C	-	-	99	-	-	99

Tyto probiotické směsi A až F podle předkládaného vynálezu obsahují živé kvasinky (10^8 CFU/g směsi) a mohou tedy být použity jako přísada do syrového těsta a/nebo jako náplň výrobků, které mají být pečeny.

Příklad 2: prokázání odolnosti kvasinek vůči pečení

19.03.03

Každá ze směsí A až F byla použita k výrobě potravinářských výrobků z pečeného těsta.

Nadto byly pro srovnání rovněž připraveny, a to prostým smísením oleje a kvasinek, dvě kapalné směsi na bázi palmového oleje o teplotě tání 20 °C, které nejsou součástí vynálezu:

- směs G: *S. cerevisiae* v poměru 10^8 CFU/g směsi,
- směs H: *S. bayanus* v poměru 10^8 CFU/g směsi

1. Příprava syrových těst

Složení syrových těst je uvedeno níže v Tabulce II.

Tabulka II

Přísada	**Množství v g**
Mouka T 55	1280
Mouka krupice	1230
Směsi A až H	45
Sladový výtažek	12
Sůl	52
Cukr	52
Kvasinky (neupravené podle tohoto vynálezu)	80
Voda	1420
Kyselina askorbová	4
Amyláza	0,65
Celkem	4175,65

19.03.09

Každé z takto připravených syrových těst obsahovalo přibližně 1 x 10^6 živých kvasinek na gram syrového těsta. Syrová těsta byla sušena 50 minut při teplotě 38 °C a následně pečena v troubě 25 minut při teplotě 240 °C.

Pro kontrolu bylo syrové těsto přímo zaočkováno množstvím přibližně 10^6 živých kvasinek na gram syrového těsta a tyto kvasinky nebyly předem chráněny prostřednictvím tuku. Jakmile bylo pečení skončeno, byl každý z takto získaných potravinářských výrobků ochlazen a nakrájen na plátky ke stanovení počtu živých kvasinek, které odolaly pečení.

Získané výsledky jsou uvedeny níže v Tabulce III.

Tabulka III

Použitý tuk	kontrola bez oleje	palmový olej	stearový palmový olej	palmový olej	palmový olej
teplota tání	-	20 °C	35 °C	45 °C	58 °C
S. cerevisiae (živé kvasinky/g)	0	600	$1x10^4$	$5x10^3$	$4x10^4$
S. bayanus (živé kvasinky/g)	0	300	$2x10^3$	$1x10^4$	$1x10^4$

Tyto výsledky ukazují, že pokud nejsou kvasinky před pečením chráněny tukem, v potravinářském výrobku po pečení nejsou nalezeny žádné živé kvasinky.

Tyto výsledky rovněž ukazují, že v závislosti na typu použitého tuku je množství živých kvasinek, zaznamenaných v konečném pečeném

19.03.03

výrobku, odlišné. Kvasinky povlečené palmovým olejem o teplotě tání 20 °C (což odpovídá syrovým těstům, zaočkovaným směsí H nebo G, obsahující olej o teplotě tání 20 °C, které nejsou součástí vynálezu, při začlenění kvasinek do syrového těsta) prakticky nepřežily tepelnou úpravu, která byla použita. Lze předpokládat, že během pečení se palmový olej o teplotě tání 20 °C v syrovém těstu rozptýlil (dispergoval) a kvasinky byly revitalizovány rehydratací.

Na druhou stranu palmové oleje o teplotě tání 45 °C a 58 °C umožnily ochranu 10^4 až $4x10^4$ živých kvasinek na gram pečeného výrobku.

Čím vyšší je teplota tání tuku, tím větší je ochranný účinek zmíněného tuku na životnost kvasinek.

Příklad III: tukové náplně s obsahem kvasinek

Připraveny byly tukové náplně, obsahující živé kvasinky. Odpovídají následujícím předpisům 1 až 3 v níže uvedené Tabulce IV, přičemž množství jsou uvedena v procentech hmotnostních vzhledem k celkové hmotnosti náplně:

Tabulka IV:

přísady	**předpis 1**	**předpis 2**	**předpis 3**
polevový cukr	56	-	49
granulovaný cukr	-	53,9	-
palmový olej (teplota tání 45 °C)	16	16	-
hydrogenovaná kopra (teplota tání 32 °C)	15	16	34,9

19.03.03

práškové nízkotučné kakao 10/12[a]	13	14	16
dehydratované živé kvasinky (*S.cerevisiae* nebo *S. bayanus*, 10^9 CFU/g)	0,1	0,1	0,1

[a]: obsahující 10 až 12 % zbytkového kakaového másla

Tyto náplně byly připraveny tak, žepoužité kvasinky byly nejprve smíseny s tuky (hydrogenovanou koprou 32) podle způsobu popsaného výše v Příkladu 1, tak, aby byla získána pevná probiotická směs, sestávající z kvasinek potažených tukem či tuky nebo opouzdřených do tuku či tuků, přičemž tato probiotická směs byla následně přidána k dalším přísadám náplní.

Takové náplně mohou být použity jak k plnění syrových výrobků, které musí být následně upečeny, tak i k naplnění již upečených výrobků.

Příklad 4: vodná náplň s obsahem kvasinek

Vodná náplň obsahující kvasinky a o níže popsaném složení se připraví stejným způsobem jako ve dříve uvedeném Příkladu 3 (uvedená procenta jsou procenty hmotnostními):

- hydrogenovaná kopra 32 27 %
- voda 20 %
- dehydratovaný glukózový sirup 15 %
- monohydrát dextrózy 12 %
- práškové sušené mléko 14 %
- cukr 11,6 %
- hydroxid vápenatý 0,05 %

19.03.03

- guarová guma 0,25 %
- dehydratované živé kvasinky (*S. cerevisiae či S. bayanus*) 0,1 %

Tato náplň může být použita jak k plnění syrových výrobků, které musí být následně pečeny, tak i k naplnění výrobků již upečených.

Příklad 5: vodná náplň obsahující kvasinky a bakterie kyseliny mléčné

Vodná náplň obsahující živé kvasinky a živé bakterie kyseliny mléčné o následujícím složení byla připravena stejným způsobem jako ve výše uvedeném Příkladu 3 (udávaná procenta jsou procenty hmotnostními):

- dehydrogenovaná kopra 32 27 %
- voda 10 %
- dehydratovaný glukózový sirup 14,8 %
- monohydrát dextrózy 13 %
- dehydratované kvasné kultivační medium v 10 % obsahující 99 % kvasinek (*S.cerevisiae* či *S. bayanus*) s obsahem 10^8 živých kvasinek/g a 1 % bakterií kyseliny mléčné (*Lactobacillus casei* DN.114001 nebo *Bifidobacterium breve*) s obsahem 10^{11} bakterií/g 13 %
- cukr 12,1 %
- hydroxid vápenatý 0,05 %
- guarová guma 0,25 %

Tato náplň může být použita jak k plnění syrových výrobků, které musí být následně pečeny, tak i k naplnění výrobků již upečených.

Zastupuje:

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Probiotický potravinářský výrobek z pečeného těsta, volitelně obsahující alespoň jednu náplň a/nebo alespoň jednu polevu, přičemž zmíněný výrobek obsahuje živé nebo životaschopné kvasinky, v y z n a č u j í c í s e t í m, že uvedené kvasinky jsou přítomny v pečeném těstu a/nebo v náplni a/nebo v polevě zmíněného pečeného těsta.

2. Probiotický potravinářský výrobek podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že takovým výrobkem jsou obilninové výrobky, jejichž těsto po upečení stále obsahuje 10^4 až 10^9 živých nebo životaschopných kvasinek na gram pečeného výrobku.

3. Probiotický potravinářský výrobek podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že uvedené výrobky jsou obilninovými výrobky, jejichž náplň a/nebo poleva obsahuje 10^4 až 10^9 živých nebo životaschopných kvasinek na gram pečeného výrobku.

4. Způsob výroby pečeného probiotického potravinářského výrobku obsahujícího živé nebo životaschopné kvasinky, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se alespoň jedna probiotická směs obsahující alespoň jeden tuk a alespoň jednu živou nebo životaschopnou kvasinku vloží do syrového nebo pečeného těsta a/nebo do náplně zmíněného syrového nebo pečeného těsta a/nebo do polevy zmíněného syrového nebo pečeného těsta, přičemž uvedený způsob zahrnuje krok pečení.

5. Způsob výroby podle nároku 4, v y z n a č u j í c í s e t í m, že krok pečení se provádí při teplotě přibližně od 150 °C do 300 °C, po dobu přibližně 3 až 40 minut, přičemž teplota ve středu pečeného výrobku musí zůstat na hodnotě nepřevyšující 90 °C až 100 °C.

19.03.03

6. Způsob výroby podle nároku 4 nebo 5, vyznačující se tím, že vložení probiotické směsi do syrového těsta a/nebo do náplně se s výhodou provádí před krokem pečení.

7. Způsob výroby podle nároku 4, vyznačující se tím, že probiotická směs se vkládá do náplně pečeného těsta při teplotě vyšší než 45 °C nebo rovnající se této teplotě.

8. Způsob výroby podle kteréhokoliv z nároků 4 až 7, vyznačující se tím, že tuk či tuky představuje či představují alespoň 40 % hmotnostních celkové hmotnosti zmíněné probiotické směsi.

9. Způsob výroby podle kteréhokoliv z nároků 4 až 6 nebo 8, vyznačující se tím, že pokud se kvasinka či kvasinky vkládá či vkládají přímo do syrového těsta před pečením, použité tuky se zvolí z tuků o teplotě tání vyšší než 20 °C.

10. Způsob výroby podle nároku 9, vyznačující se tím, že tuky se zvolí z takových tuků, které mají teplotu tání vyšší než 30 °C nebo rovnající se této teplotě.

11. Způsob výroby podle nároku 9 nebo 10, vyznačující se tím, že tuky se zvolí z takových tuků, které mají teplotu tání vyšší než 35 °C nebo rovnající se této teplotě.

12. Způsob výroby podle nároku 11, vyznačující se tím, že tuky se zvolí z takových tuků, které mají teplotu tání v rozmezí od 45 °C do 60 °C.

13. Způsob výroby podle nároku 4, vyznačující se tím, že tuky jsou rostlinného původu a zvolí se z stearového palmového oleje o teplotě tání 35 °C, palmových olejů o teplotě tání 45 °C a 58 °C,

19.03.03

kakaového másla, arašídového másla, palmojádrového oleje, kopry, jako hydrogenované kopry o teplotě tání 32 °C, potravinářských vosků a ze směsí takových látek.

14. Způsob výroby podle nároku 13, v y z n a č u j í c í s e t í m, že tuky se zvolí z palmových olejů o teplotách tání 45 °C a 58 °C, hydrogenované kopry o teplotě tání 32 °C a ze směsí takových látek.

15. Způsob výroby podle nároku 4, v y z n a č u j í c í s e t í m, že pokud jsou kvasinky přítomné v náplni syrového nebo pečeného těsta, tuky se zvolí z:

- tuků majících teplotu tání vyšší než 20 °C a takových, jaké byly definovány v kterémkoliv z nároků 9 až 14, přičemž zmíněná náplň má vyšší aktivitu vody Aw;
- tuků majících teplotu tání vyšší než 20 °C a takových, jaké byly definovány v kterémkoliv z nároků 9 až 14, a rovněž z tuků majících teplotu tání nižší než 20 °C nebo rovnající se této teplotě, přičemž zmíněná náplň má nižší aktivitu vody Aw.

16. Způsob výroby podle nároku 15, v y z n a č u j í c í s e t í m, že tuky mající teplotu tání nižší než 20 °C nebo rovnající se této teplotě jsou zvoleny z olivového, řepkového, sojového, slunečnicového, palmového oleje a oleje z hroznových semen.

17. Způsob výroby podle kteréhokoliv z nároků 4 až 16, v y z n a č u j í c í s e t í m, že kvasinky se zvolí z kvasinek rodu *Saccharomyces* a *Kluyveromyces.*

18. Způsob výroby podle kteréhokoliv z nároků 4 až 17, v y z n a č u j í c í s e t í m, že kvasinky představují 0,0001 % až 30 % hmotnostních celkové hmotnosti uvedené probiotické směsi.

19.03.03

19. Způsob výroby podle kteréhokoliv z nároků 4 až 18, v y z n a č u j í c í s e t í m, že probiotická směs rovněž obsahuje bakterie, s výhodou bakterie kyseliny mléčné.

20. Pečené probiotické potravinářské výrobky, v y z n a č u j í c í s e t í m, že mohou být získány použitím způsobu, definovaného ve kterémkoliv z nároků 4 až 19.

21. Pečené probiotické potravinářské výrobky podle nároku 20, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahují probiotické množství živých nebo životaschopných kvasinek vyšší než 10^2 CFU/g pečeného výrobku a tyto kvasinky jsou přítomné v pečeném těstu a/nebo v náplni a/nebo v polevě uvedených potravinářských výrobků.

22. Probiotická směs, obsahující alespoň jeden tuk mající teplotu tání vyšší než 20 °C a alespoň jednu živou nebo životaschopnou, s výhodou dehydrovanou, kvasinku, v y z n a č u j í c í s e t í m, že je odolná vůči pečení, pevná při teplotě místnosti, kvasinka či kvasinky v ní představuje či představují 0,0001 % až 30 % hmotnostních vzhledem k celkové hmotnosti směsi a tím, že neobsahuje škrob.

23. Směs podle nároku 22, v y z n a č u j í c í s e t í m, že hmotnostní poměr tuku a kvasinek je vyšší než 4 : 10.

24. Směs podle nároku 22 nebo 23, v y z n a č u j í c í s e t í m, že je ve formě špalíků, plátků, hoblinek, perliček, kostek nebo mikročástic.

25. Způsob výroby pevné probiotické směsi, jak byla definována ve kteréhokoliv z nároků 22 až 24, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje kroky, při nichž se v prvním kroku zkapalní alespoň jeden tuk mající teplotu tání vyšší než 20 °C při teplotě vyšší než je teplota tání

19.03.03

zmíněného tuku či tuků, v druhém kroku se ke zmíněnému roztavenému tuku nebo tukům přidá či přidají živá(é) nebo životaschopná(é), s výhodou dehydratovaná(é) kvasinka či kvasinky, s výhodou za míchání a poté se ve třetím kroku takto získaná kapalná směs ochladí na teplotu nižší než je teplota tání zmíněného tuku či tuků k získání pevné směsi.

26. Použití alespoň jedné probiotické směsi jak byla nárokována ve kterémkoliv z nároků 22 až 24, jako probiotické potravinářské přísady k výrobě syrových nebo pečených probiotických potravinářských výrobků.

Zastupuje: