PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19) ČESKÁ REPUBLIKA



ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **14.03.2012**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **09.10.2013**

(Věstník č. 41/2013)

(21) Číslo dokumentu:

2012-184

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

C12C 12/00 (2006.01)

C12N 1/16 (2006.01)

(71) Přihlašovatel:

Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Praha, CZ

(72) Původce:

Slabý Martin Ing., Kralupy nad Vltavou, CZ

Matoulková Dagmar RNDr., Trutnov, CZ

Kosař Karel RNDr. CSc., Brno, CZ

(74) Zástupce:

Ing. Ludvík Koldovský, Horáčkova 9, Praha 4, 14000

(54) Název přihlášky vynálezu:

Kmen Saccharomyces pastorianus RIBM 6, jeho použití při výrobě piva a nápojů jej obsahujících

(57) Anotace:

Řešení se týká kvasného kmene Saccharomyces pastorianus RIBM 6 a možností jeho využití v pivovarském průmyslu pro výrobu alkoholického nebo nealkoholického piva samostatně nebo v kombinaci s jinými mikroorganizmy. Řešení se dále vztahuje i na výrobky obsahující tento kmen případně obsahující koncentrát tohoto kmene.

CZ 2012 - 184 A3

Kmen *Saccharomyces pastorianus* RIBM 6, jeho použití při výrobě piva a nápojů jej obsahujících.

Oblast techniky

Vynález se týká nového kmene *Saccharomyces pastorianus* RIBM 6, který může být použit samostatně nebo v kombinaci s jinými mikroorganizmy pro výrobu alkoholických a nízkoalkoholických piv, a rovněž výrobků obsahujících tento kmen

Dosavadní stav techniky

Výroba piva spočívá ve zkvašování mono -, di- a trisacharidů mladiny pivovarskými kvasinkami. Při tomto zkvašování dochází k přeměně sacharidů na ethanol, oxid uhličitý a energii potřebnou k pomnožování kvasnic. Přeměna sacharidů probíhá podle Embden-Meyerhof-Parnasova schématu alkoholového kvašení. Průběh kvašení je zpočátku aerobní, kdy nevzniká ethanol, ale pouze oxid uhličitý a velké množství energie pro vývoj kvasnic. V druhé a podstatně delší fázi je kvašení anaerobní a zde probíhá pivovarsky nejdůležitější část metabolismu kvasinek a to přeměna pyruvátu na ethanol.

Z výrobního hlediska je mimo obsah ethanolu také důležitý vznik vedlejších produktů kvašení. V současné době byly identifikovány přibližně dva tisíce látek, které významnou měrou ovlivňují složení a hlavně senzorické vlastnosti výsledného piva. Jedná se hlavně o vyšší alkoholy, estery a aldehydy. Pro celkový senzorický dojem je velmi důležitý celkový poměr vyšších alkoholů a esterů, neboť jednotlivé sloučeniny jsou velmi často pod prahovou koncentrací senzorického vmínání.

Důležitým parametrem všech piv je senzorická stabilita, to znamená doba, po kterou nejsou zaznamenány žádné chuťové změny ve výrobku. Jakékoliv změny v průběhu tzv. stárnutí piva jsou považovány za negativní. Jedná se zejména o oxidativní pochody spojené s polyfenoly a estery, a /nebo působení světla o

různých vlnových délkách na polyfenoly a karbonylové sloučeniny obsažené v pivu. Těmto změnám není možné předcházet, lze je však omezovat zvolením vhodné technologie výroby piva (zamezování styku piva s kyslíkem) nebo volbou kmene pivovarských kvasinek, který tvoří v průběhu kvašení větší množství antioxidantů.

Podstata vynálezu

Vynález se týká kmene *Saccharomyces pastorianus* RIBM 6 (dále jen kmen RIBM 6), který je vhodný pro výrobu alkoholického nebo nízkoalkoholického piva samostatně nebo v kombinaci s jinými mikroorganizmy. Nový kmen byl izolován v pivovaru, z hlavního kvašení. Kmen *Saccharomyces pastorianus* RIBM 6 vytváří elipsoidní i kulovité buňky s rozměry 6-10 µm x 5-8 µm, s průměrným objemem 175 mm^2; a povrchem buněk 150 μm^2. Buňky nevytvářejí mycelium, pseudomycelium se vytváří vzácně.

Vzhled a konzistence kolonií - nátěr je těstovitý, krémový, světle hnědý, hladký, lesklý, nikdy není drsný ani kučeravý. Charakter nárůstu v kapalném mediu - v kapalinách tvoří sediment, mázdra se nikdy nevytváří. Kmen byl charakterizován pomocí biochemických testů zkvašování jednoduchých cukrů, při kterých byl porovnáván s dalšími 5 kmeny kvasinek. Při tomto porovnání se prokázalo, že patří do druhu *Saccharomyces pastorianus*. Odlišnosti od všech ostatních kmenů byly zjištěny při porovnávání technologických vlastností s použitím laboratorních kvasných testů zkvašování mladiny a s použitím poloprovozních zkoušek.

Kmen byl uložen ve Sbírce mikroorganizmů Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského, a.s., označovanou kódem RIBM (Research Institute of Brewing and Malting) pod číslem RIBM 6.

Nový kmen RIBM 6 je variantou druhu *Saccharomyces pastorianus* a má, ve srovnání se známými kmeny *Saccharomyces pastorianus,* některé výhodné vlastnosti pro využití při přípravě alkoholických a nízkoalkoholických piv.

Kmen RIBM 6 je vhodný především pro kvašení při nízkých teplotách hlavního kvašení, které jsou charakteristické pro klasickou výrobu českého ležáku. Vyznačuje se velmi dobrým průběhem kvašení i při zákvasné teplotě 6 °C a maximální teplotě kvašení 8 °C. I za těchto nízkých teplot dochází k intenzivnímu pomnožení buněk. To se prakticky neliší v širokém intervalu teplot až do zákvasné teploty 11 °C a maximální teploty kvašení 14 °C, používané v moderních

postupech kvašení. S tím dobře koreluje vyrovnané využití α – aminodusíku. To se v uvedeném rozmezí teplot hlavního kvašení pohybuje okolo 55 %.

Kmen je také charakteristický dostatečně vysokou rychlostí kvašení i při nízkých teplotách v logaritmické fázi mezi 48. a 96. hodinou kvašení. Při zákvasné dávce 15 x 10^6 buněk v 1 ml a zákvasné teplotě 6 °C dosahuje rychlosti kvašení až 0,045 %EPM / h a více.

Z hlediska tvorby senzoricky aktivních látek určujících chuťový profil piva je pro kmen č. 6 charakteristická nižší tvorba esterů a průměrná produkce alkoholů v uvedeném rozsahu teplot. Výsledkem je vyšší poměr alkoholů k esterům v mladém pivu na úrovni okolo 7,5.

Vyšší je tvorba oxidu siřičitého, který je významný pro senzorickou stabilitu piva. Jeho koncentrace se u piv kvašených kmenem č. 6 pohybuje okolo 9 mg/l SO_2. Blíží se tak horní hranici považované za přirozený obsah daný činností kvasinek, která je 10 mg/l SO_2.

Příprava kmene pro výrobu nápoje

Kmen RIBM 6 lze jednoduše připravit způsobem běžným pro ostatní kvasinky. Jako substrát pro pomnožení kmene lze použít roztok obsahující alespoň jeden zdroj zkvasitelného cukru (glukózu, sacharózu, maltózu) a zdroj proteinů, vitamínů a minerálů, které jsou pro růst kvasinek vyžadovány. Běžně lze využít sterilní mladinu. Kmen je kultivován při teplotě 10 až 16°C, v přítomnosti malého množství kyslíku nebo v prostředí bez kyslíku. Kutlivační doba je stanovena podle požadovaného výsledného množství kmene pro zakvašení nápoje. Po ukončení kultivace do požadovaného množství kmene je kmen promyt vodou (opakovanou sedimentací a promýváním) tak, aby došlo k odstranění kultivačního média. Takto připravený kmen může být přímo použit pro výrobu požadovaného piva.

Příklady provedení vynálezu

Příklad využití č.1:
Zakvašení mladiny o koncentraci 12% hm. při teplotě 9°C, dávkou kvasnic 15 milionů buněk na 1ml a vedení hlavního kvašení v otevřených kvasných kádích při maximální teplotě 12°C.

Příklad využití č.2:
Zakvašení mladiny o koncentraci 12% hm. při teplotě 10°C, dávkou kvasnic 15 milionů buněk na 1ml a vedení hlavního kvašení v CKT při maximální teplotě 14°C.

Příklad využití č.3:
Zakroužkování sudovaného piva, rozkvašenou mladinou pomocí patentovaného kmene, 10% objemu kroužků a využití odlišných vlastností patentovaného kmene pro změnu senzorického profilu piva.

Jednotlivé příklady jsou pouze o ilustrativní a je možné kombinovat jednotlivé postupy v rozsahu hodnot uvedených v patentových nárocích.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Využití patentovaného kvasného kmene pro hlavní kvašení mladin v otevřených kvasných kádích při použití mladin do koncentrace 15% hm. při teplotách uvedených výše.

2. Využití patentovaného kvasného kmene pro hlavní kvašení mladin v CKT při použití mladin do koncentrace 15% hm. při teplotách uvedených výše.

3. Využití patentovaného kmene pro dokvašování mladých piv připravených pomocí jiné kvasné kultury. Objem přidávaných kroužků s patentovaným kmenem do 20% obj.

4. Využití patentovaného kvasného kmene k dokvašování piv v láhvi, jako třetí fermentace pro dosažení požadovaných senzorických parametrů.