

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 1993 - 2522

(22) Přihlášeno: 23.11.1993

(30) Právo přednosti:
25.11.1992 DE 1992/4239605

(40) Zveřejněno: 15.06.1994
(Věstník č. 6/1994)

(47) Uděleno: 08.01.2002

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 13.03.2002
(Věstník č. 3/2002)

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl. 7:

C 12 C 12/04

C 12 C 11/06

C 12 C 13/00

(73) Majitel patentu:

CULTOR LTD., Helsinky, FI;

(72) Původce vynálezu:

Back Werner dr., Freising, DE;

Lommi Heikki, Kantvik, FI;

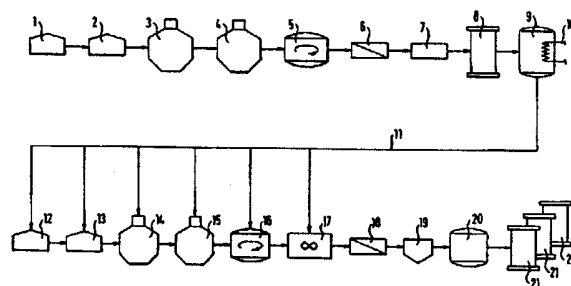
Swinkels Wilhelmus Jacobus Petrus Maria, Beek En
Donk, NL;

Viljava Timo Tapio, Kantvik, FI;

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA, Jívanská 1/1273, Praha
4, 14021;

nealkoholické pivo.



(54) Název vynálezu:

**Způsob výroby nealkoholického piva a zařízení
k provádění tohoto způsobu**

(57) Anotace:

Způsob výroby nealkoholického piva, jímž se upraví hodnota pH mladiny bakteriemi produkujícími kyselinu mléčnou, spočívá v tom, že:

- mladina bez obsahu chmelu nebo chmelového extraktu se nechá protékat bioreaktorem, obsahujícím imobilizované bakterie produkující kyselinu mléčnou na povrchu nestlačitelného nosiče, který sestává z kontinuální porézní základní hmoty nebo z důlkovaných nebo retikulárních porézních částic, přičemž struktura této základní hmoty nebo těchto částic je tvořena volně asociovanými mikročásticemi nebo mikrovlákný, vzájemně spojenými chemicky, adhezně nebo mechanicky, alespoň v některých spojovacích místech mezi jednotlivými mikročásticemi nebo mikrovlákný, kde tyto mikročástice nebo mikrovlákný sestávají z materiálu, zejména pryskyřice, s vlastnostmi měniče aniontů,
- dále se okyselená mladina, která se získá z bioreaktoru, nechá usadit v kontejneru pro dodatečnou úpravu,
- dále se takto upravená okyselená mladina z kontejneru pro dodatečnou úpravu smíchá s neokyselenou mladinou pro úpravu na předepsanou hodnotu pH a
- tato směs se dále zpracovává známým způsobem na

Způsob výroby nealkoholického piva a zařízení k provádění tohoto způsobu

Oblast techniky

5

Vynález se týká způsobu výroby nealkoholického piva a zařízení k provádění tohoto způsobu.

Pojem „nealkoholické pivo“ se vztahuje v různých zemích na různé produkty. Tak například ve Španělsku je za nealkoholická považován produkt s obsahem alkoholu nižším než 1 % objemové, zatímco v Holandsku je tento limit 0,5 % objemových. V arabských státech nesmí obsah alkoholu v nealkoholickém pivu překročit 0,05 % objemových. V USA a v některých dalších státech nesmí být jako pivo označován nápoj s obsahem alkoholu nižším než 0,5 % objemových. Podle tohoto vynálezu se pod pojmem „nealkoholické“ rozumí, že zahrnuje pivo, které má značně snížený obsah alkoholu vzhledem k normálním alkoholickým pivům.

15

Dosavadní stav techniky

Obvyklý způsob výroby nealkoholického piva spočívá v odstraňování alkoholu z normálního piva, které obsahuje alkohol. Tento způsob je však velmi drahý, a použité stupně tohoto způsobu, jako je destilace a způsob membránové separace také způsobí odstranění aromatických složek, takže výsledný produkt má často vodovou chuť.

V dalším způsobu výroby nealkoholického piva se používá spojení mladiny s aktivními kvasinkami za předepsaných podmínek. Tento způsob se obvykle provádí v diskontinuálně pracujících vsádkových reaktorech a v nedávné době také v kontinuálně pracujících bioreaktorech, které jsou plněny imobilizovanými kvasinkami (Evropská patentová přihláška EP 0 424 794 A2). Parametry tohoto způsobu, hlavně teplota v bioreaktoru a průtoková rychlost v bioreaktoru, se zvolí tak, aby byla potlačena tvorba alkoholu, ale aby mohly probíhat další metabolické reakce s kvasinkami, které vedou k tvorbě důležitých aromatických složek a ke snížení pachutí. Mladina použitá pro tento způsob se vyrábí obvyklým způsobem upraveným pro výrobu nealkoholického piva.

Při srovnání s normálními alkoholickými pivy je nealkoholické pivo citlivější na mikrobiologické znečištění během výroby a také během uskladnění. Pro zamezení tohoto nebezpečí se hodnota pH snižuje obvykle již v mladině, takže se zvýší stálost produktu. Nejjednodušším způsobem, jak toho dosáhnout, je přidání kyseliny k mladině, přičemž se dává přednost kyselině mléčné pro její vůni. Zákonné předpisy v některých státech zakazují přidávání kyseliny při výrobě piva, pokud se kyselina neprodukuje přírodním způsobem fermentací během způsobu výroby. V tomto případě se často postupuje tak, že se k mladině ve vsádkovém fermentoru přidávají bakterie produkující kyselinu mléčnou, a takto upravená mladina se smíchá v předepsaném poměru s mladinou, jejíž hodnota pH se má upravit. Nevýhodou tohoto způsobu okyselení mladiny prováděné diskontinuálním způsobem je však to, že růst a činnost bakterií produkujících kyselinu mléčnou se může jen obtížně řídit, takže není možné přesně upravit množství produkované kyseliny mléčné, a tedy ani hodnotu pH upravované mladiny. Dále, rychlost produkování kyseliny mléčné ve vsádkovém reaktoru je poměrně nízká, takže obzvláště ve velkých pivovarech, kde se každý den vyrobí mnoho várek piva, se musí použít velké množství biomasy k produkování dostatečného množství kyseliny mléčné, a pro získání vhodné hodnoty pH. Celkově lze říci, že okyselení podle uvedeného diskontinuálního způsobu je velice náročné na čas a vyžaduje značně velká výrobní zařízení.

Ze stavu techniky je známa imobilizace různých bakterií, produkujících kyselinu mléčnou, kde se imobilizace provádí různými způsoby zachycováním nebo zapouzdřením bakterií do materiálů nosiče, jak je například popsáno v publikaci „Enzymes and Immobilized Cells in Biotechnology“, Benjamin/Cummings Publishing Compl., Inc., 1985, vydané Allanem I. Leskinem. Tyto způsoby

mají však značné nevýhody, takže dosud nebylo uspokojivě vyřešeno jejich přizpůsobení průmyslovým měřítkům. Použité materiály nosiče, například alginátové perličky, jsou poměrně měkké a způsobují tvorbu zbytečných vysokotlakých kapiček v reaktorech s vrstvou náplně, pokud se používají vysoké průtokové rychlosti nebo velké provozní jednotky. Dále, u známých způsobů ze stavu techniky se imobilizace neprovádí v samotných bioreaktorech, ale v samostatném zařízení, kde se částice nosiče spojují s bakteriemi. Materiál nosiče se nemůže znovu použít, když je soustava znečištěna, nebo když je výrobní způsob z jiných důvodů přerušen. V publikaci „Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm. 14, 157–161 (1992)“ je popsáno kontinuální kvašení mladiny za použití bakterií *Lactobacillus amylovorus*, imobilizovaných na alginátovém nosiči. Materiál nosiče je měkký a nemůže se znovu použít.

Z uvedených nevýhod vyplývá, že použití imobilizovaných bakterií produkujících kyselinu mléčnou k okyselení pивních produktů ve velkém měřítku nelze považovat ze způsoby slibující úspěch.

Podstata vynálezu

Cílem tohoto vynálezu je vytvoření způsobu, podle něhož se imobilizované bakterie produkující kyselinu mléčnou, mohou používat k okyselení mladiny, za současného zamezení uvedených nevýhod. Dalším cílem je vytvoření příslušného zařízení k provádění tohoto způsobu.

Prvního cíle se dosáhne způsobem výroby nealkoholického piva, jímž se upraví hodnota pH mladiny bakteriemi produkujícími kyselinu mléčnou, podle vynálezu, jehož podstatou je, že obsahuje následující stupně:

a) mladina, která neobsahuje chmel nebo chmelový extrakt, se nechá protékat bioreaktorem, obsahujícím imobilizované bakterie produkující kyselinu mléčnou na povrchu nestlačitelného nosiče, který sestává z kontinuální porézní základní hmoty nebo z důlkovaných nebo retikulárních porézních částic, přičemž struktura této základní hmoty nebo těchto částic je tvořena volně asociovanými mikročásticemi nebo mikrovlákny, vzájemně spojenými chemicky, adhezně nebo mechanicky, alespoň v některých spojovacích místech mezi jednotlivými mikročásticemi nebo mikrovlákny, kde tyto mikročástice nebo mikrovlákna sestávají z materiálu, zejména pryskyřice, s vlastnostmi měniče aniontů,

b) dále se okyselená mladina, která se získá z bioreaktoru, nechá usadit v kontejneru pro dodatečnou úpravu,

c) dále se takto upravená okyselená mladina z kontejneru pro dodatečnou úpravu smíchá s neokyselenou mladinou pro úpravu na předepsanou hodnotu pH a

d) tato směs se dále zpracovává známým způsobem na nealkoholické pivo.

Mladina, použitá ve stupni a) neobsahuje nebo v podstatě neobsahuje žádný chmel nebo chmelový extrakt, jelikož bakterie produkující kyselinu mléčnou jsou převážně citlivé na sloučeniny obsažené ve chmelu, které je zabíjejí.

Mladina, použitá ve stupni a) se předem upravuje tak, že se zbavuje nerozpustných složek a vaří se nebo se stripuje bublinami dusíku, oxidu uhličitého nebo páry nebo se vyčeří. Vaření se obvykle provádí při teplotě 100 až 105 °C, přičemž stripování obvykle nastává při teplotě 99 až 102 °C. Stupeň vaření nebo stripování se provádí zejména pro eliminování nečistot DMS nebo DMSO (dimethylsulfid nebo dimethylsulfoxid). Vyčeření se provádí zejména při teplotě 70 až 80 °C, přičemž se zejména dává přednost teplotě 75 °C.

Mladina se upraví na teplotu 47 až 52 °C, před svým umístěním do bioreaktoru. Ve výhodném provedení se mladina upraví na teplotu 48 °C.

5 Po upravení teploty a po přivedení mladiny do bioreaktoru může mladinou volně procházet oxid uhličitý nebo se může přidávat přímo do proudu mladiny, zejména až k nasycení mladiny. Zdroj uhlíku takto přivedený do mladiny má význam pro metabolické činnosti. Navíc se sníží hodnota pH.

10 Podle výhodného provedení způsobu se mladina nechá protékat bioreaktorem ve stupni a) při teplotě 47 až 52 °C, a při přetlaku 0,5 MPa, s dobou styku 5 až 60 minut. Zvláště výhodné parametry jsou teploty 48 °C a přetlak 0 až 0,2 MPa, a doba styku 20 minut.

15 Materiál nosiče, použitý k imobilizaci v bioreaktoru sestává zejména z pryskyřice, odvozené od celulózy nebo vláken na bázi celulózy, a která je chemicky upravená tak, že má vlastnosti měniče aniontů, neboli anexu. Obzvláště výhodné provedení zahrnuje mikrovláknna nebo mikročástice celulózy substituované diethyl-aminoetylenem (celulóza DEAE), přičemž mikrovláknna nebo mikročástice jsou adhezně spojené aglomerací polystyrenem. Pro aglomeraci mohou být vhodné i jiné hydrofobní polymery, než je polystyren, jako jsou například melamin-formaldehydové pryskyřice a epoxidové pryskyřice.

20 Podle dalšího uspořádání může materiál nosiče, použitý k imobilizaci bakterií produkujících kyselinu mléčnou, sestávat z porézních sintrovaných skleněných nebo keramických materiálů.

25 Jako bakterie produkující kyselinu mléčnou se zejména používají homofermentační bakterie, které produkují hlavně kyselinu mléčnou a některé aromatické složky, které pozitivně ovlivňují aroma piva, které produkují kyselinu mléčnou ve stálém a dostatečném množství. V tomto případě lze uvést jako příklad bakterie kmenů *Lactobacillus amylovorus*, *plantarum* a *helveticus*.

30 Bakterie se mohou imobilizovat na nosiči tak, že se nosič plněný do bioreaktoru nejdříve steriluje horkým roztokem hydroxidu sodného, neutralizuje se a propláchne se vodou, a potom se ložem nosiče pročerpává suspenze odděleně kultivovaných bakterií tak, aby se bakterie vázaly na povrch nosiče. Dávkování bakterií na nosiči je přibližně 10^8 až 10^{12} buněk bakterií na gram suchého nosiče. Množství dávkovaných nosičů v bioreaktoru a parametry způsobu během průtoku mladiny bioreaktorem se zejména upraví tak, aby koncentrace kyseliny mléčné na
35 výtoku z bioreaktoru byla zejména 2 až 6 g/l, přičemž zejména výhodná koncentrace je 5 g/l. Hodnota pH na výtoku je v tomto případě zejména 3,3 až 4,0, přičemž obzvláště výhodná je hodnota pH 3,8.

40 Bakterie produkující kyselinu mléčnou použité na nosiči se zejména regenerují po několika měsících tak, že se bioreaktorem nechá několik hodin protékat vodný roztok hydroxidu sodného, o koncentraci 2 % hmotnostních, při teplotě 60 až 80 °C, potom se roztok sterilizuje, neutralizuje a propláchne a upraví se odděleně připravenou suspenzí bakterií, jak bylo shora popsáno.

45 Jelikož k odumírání bakterií může dojít u vysokých dávek nosiče s bakteriemi produkujícími kyselinu mléčnou, a tedy při vysoké koncentraci vyrobené kyseliny mléčné v bioreaktoru, je vhodné, když se nevolí příliš vysoké koncentrace bakterií v bioreaktoru, a když se místo toho provádí dodatečná fermentace podle stupně b) způsobu podle vynálezu. V tomto případě se mladina po úpravě v bioreaktoru převede do kontejneru pro dodatečnou úpravu. Současně s mladinou se do kontejneru pro dodatečnou úpravu převede malé množství bakterií
50 absorbovaných v bioreaktoru na povrchu nosiče.

Tyto bakterie potom uskuteční v tomto kontejneru dodatečnou fermentaci, to je v kontejneru pro dodatečnou úpravu se zvýší koncentrace kyseliny mléčné v mladině, a hodnota pH poklesne.

Podle výhodného provedení stupně b) se doba setrvání v kontejneru pro dodatečnou úpravu nastaví tak, aby koncentrace kyseliny mléčné byla 9 až 15 g/l, a v obzvláště výhodném provedení 10 g/l. V tomto případě se hodnota pH zejména upraví na hodnotu 2,8 až 3,2, přičemž optimální hodnota pH je nižší než 3.

5

Ve stupni c) způsobu podle vynálezu se okyselená mladina odebraná z kontejneru pro dodatečnou úpravu smíchá s neokyselenou mladinou. Směšovací poměr se zvolí zejména tak, aby výsledná hodnota pH byla 4 až 4,5, a ve výhodnějším provedení 4,2, v případě, že se mladina upravuje ve stupni d) v bioreaktoru fermentováním imobilizovanými kvasinkami. Když se mladina upravuje imobilizovanými kvasinkami podle stupně d), výhodná hodnota pH po smíchání ve stupni c) je 5,0 až 5,5.

10

Mladina, která se upravuje na přesně stanovenou hodnotu pH, a na smíchání ve stupni c), se zejména předem upravuje tak, že se zbavuje nerozpustných složek a zejména se vaří nebo se stripuje bublinami dusíku, oxidu uhličitého nebo páry nebo se vyčeří, jak bylo shora uvedeno u mladiny, která se má okyselit imobilizovanými bakteriemi produkujícími kyselinu mléčnou.

15

Podle stupně d) způsobu podle vynálezu se potom mladina, upravená na předepsanou hodnotu pH, ochladí na teplotu 0 °C až 2 °C, filtruje se a následně se upravuje fermentováním kvasinkami. Úprava kvasinkami se zejména provádí v bioreaktoru imobilizovanými kvasinkami. Podle obzvláště výhodného provedení je v tomto případě nosič pro kvasinky stejného typu jako při imobilizaci bakterií produkujících kyselinu mléčnou, to je nosič, který sestává z kontinuální porézní základní hmoty nebo z důlkovaných nebo retikulárních porézních částic, přičemž struktura této základní hmoty nebo těchto částic je tvořena volně asociovanými mikročásticemi nebo mikrovlákný, vzájemně spojenými chemicky, adhezně neb mechanicky, alespoň v některých spojovacích místech mezi jednotkovými mikročásticemi nebo mikrovlákný, kde tyto mikročástice nebo mikrovlákná sestávají z materiálu, zejména pryskyřice, s vlastnostmi měniče aniontů. Nosič je tvořen pryskyřicí, odvozenou od celulózy nebo vláken na bázi celulózy, a která je chemicky upravená tak, že má vlastnosti měniče aniontů, neboli anexu. Obzvláště výhodné provedení zahrnuje mikrovlákná nebo mikročástice celulózy substituované diethyl-aminometylenem (celulóza DEAE), které jsou vzájemně vázané nebo aglomerované polystyrenem.

20

25

30

Podle dalšího uspořádání obsahuje nosič pro kvasinky porézní sintrované skleněné nebo keramické materiály.

35

Podle obzvláště výhodného provedení stupně d) způsobu podle vynálezu může bioreaktor obsahovat několik kolon, zejména uspořádaných pod tlakem nebo spojených paralelně.

40

45

50

55

Druhého cíle tohoto vynálezu se dosáhne vytvořením zařízení na výrobu nealkoholického piva, zejména na okyselení mladiny bakteriemi produkujícími kyselinu mléčnou, podle vynálezu, jehož podstatou je, že sestává z výrobní linky, tvořené kádí k výrobě díla, spojenou s nádobou pro odstraňování nerozpustných složek, spojenou s varnou nádobou, spojenou s vystíracím zařízením, které je dále spojeno s vířivou čeřicí lázní, spojenou s tepelným výměníkem, spojeným se zařízením k přivádění CO₂ do mladiny, které je spojeno s bioreaktorem obsahujícím bakterie produkující kyselinu mléčnou, imobilizovanými na povrchu nosiče, přičemž bioreaktor je dále spojen s kontejnerem pro dodatečnou úpravu, opatřeným regulačním přístrojem pro nastavení teploty v kontejneru pro dodatečnou úpravu, přičemž kontejner pro dodatečnou úpravu, je dále spojen s potrubím pro přivádění okyselené mladiny z kontejneru do jednoho nebo více dalších zařízení, tvořených kádí k výrobě díla, spojenou s nádobou pro odstraňování nerozpustných složek, spojenou s varnou nádobou, spojenou s vystíracím zařízením, které je spojeno s vířivou čeřicí lázní, spojenou s míchačkou, přičemž míchačka je dále spojena s chladicím zařízením směsi okyselené a neokyselené mladiny, kde chladicí zařízení je spojeno s filtrační jednotku, spojenou se zásobní nádrží, k níž je připojen alespoň jeden bioreaktor s imobilizovanými nebo neimobilizovanými kyselinami. Ve výhodném provedení je bioreaktor tvořen řadou kolon, které jsou pod tlakem a jsou uspořádány vzájemně paralelně.

Přehled obrázků na výkrese

Vynález bude blíže osvětlen pomocí výkresu, kde na přiloženém obrázku je formou blokového schéma znázorněno zařízení k provádění způsobu podle vynálezu, to je zařízení na výrobu nealkoholického piva.

Příklad provedení vynálezu

Zařízení na výrobu nealkoholického piva sestává z výrobní linky, tvořené kádí 1 k výrobě díla, spojenou s nádobou 2 pro odstraňování nerozpustných složek, spojenou s varnou nádobou 3, spojenou s vystíracím zařízením 4, které je dále spojeno s vířivou čeřicí lázní 5, spojenou s tepelným výměníkem 6, spojeným se zařízením 7 k přivádění CO₂ do mladiny, které je spojeno s bioreaktorem 8, plněným dávkovaným nosičem shora uvedeného typu pro okyselení, přičemž bioreaktor 8 je dále spojen s kontejnerem 9 pro dodatečnou úpravu, opatřeným regulačním přístrojem 10 pro nastavení teploty v kontejneru 9 pro dodatečnou úpravu, přičemž kontejner 9 pro dodatečnou úpravu je dále spojen s potrubím 11 pro přivádění okyselené mladiny z kontejneru 9 do jednoho nebo více dalších zařízení 12 až 17, tvořených kádí 12 k výrobě díla, spojenou s nádobou 13 pro odstraňování nerozpustných složek, spojenou s varnou nádobou 14, spojenou s vystíracím zařízením 15, které je spojeno s vířivou čeřicí lázní 16, spojenou s míchačkou 17, přičemž míchačka 17 je dále spojena s chladicím zařízením 18 smíchané mladiny, kde chladicí zařízení 18 je spojeno s filtrační jednotkou 19, spojenou se zásobní nádrží 20, k níž je připojen alespoň jeden bioreaktor 21 s imobilizovanými nebo neimobilizovanými kvasinkami.

Podle výhodného provedení sestává bioreaktor 21 z několika kolon, které jsou spojeny paralelně nebo jsou uspořádány pod tlakem.

Shora popsany způsob výroby nealkoholického piva, podle něhož se kyselina mléčná pro okyselení mladiny vyrábí kontinuálně imobilizovanými bakteriemi produkujícími kyselinu mléčnou, je výhodný v tom, že v důsledku vazby bakterií na povrch nosiče se dosáhne vysoké a stálé koncentrace buněk, takže kyselina mléčná může být produkována v dostatečně velkém množství, v krátkém časovém úseku a za řízených podmínek. Tento kontinuální způsob umožňuje dosažení krátké doby setrvání mladiny v bioreaktoru a má za následek menší rozměry reaktoru, v porovnání s diskontinuálními způsoby. Upravený produkt je znečištěn pouze malým množstvím biomasy a nevyžaduje žádné pracné separační operace. Nosič používaný v nárokováném způsobu výroby se může používat opakovaně a má dlouhou životnost. A konečně v bioreaktoru se nevytvářejí žádné zbytečné tlakové kapičky vzhledem k nosiči, který je v podstatě nestlačitelný.

Bioreaktor podle vynálezu má vysokou kapacitu a flexibilitu, pokud jde o výrobu kyseliny mléčné. Bioreaktor se může udržovat několik týdnů v pohotovostních podmínkách a může se snadno spustit. Pracovní způsoby v bioreaktoru se mohou provádět plně automaticky a v uzavřeném režimu, takže se dosáhne dobrých biologických podmínek bez znečištění buňkami cizích bakterií nebo kvasinek. Bioreaktor podle vynálezu umožňuje montáž v kompaktním provedení a přináší úsporu energie a nákladů.

Vynález bude podrobněji popsán podle následující příkladu.

Výroba nosiče

25 dílů celulózy se smíchalo s 25 díly oxidu hlinitého a tato směs se smíchala s 50 díly polystyrenu po dobu přibližně 10 minut ve dvouválcovém mlýnu vyhřátém na 180 až 200 °C. Po ochlazení se směs rozemlela a rozmělnila se na částice o velikosti 0,420 až 0,149 mm.

220 g jemně mleté směsi se převedlo na kaši s 616 ml vody, obsahující 176 g síranu sodného a 26,4 g hydroxidu sodného. Kaše se ohřála na teplotu 40 °C, a potom se k ní během jedné hodiny přidalo za míchání 57,2 g 5% vodného roztoku hydrochloridu diethylaminoethylchloridu (DEC), při rychlosti 0,7 ml/min. Ke kaši se potom přidalo 26,4 g hydroxidu sodného rozpuštěného ve 26 ml vody a potom se přidalo dalších 27,25 roztoku DEC při rychlosti 0,7 ml/min.

Teplota kaše se zvýšila na 60 °C a tato teplota se udržovala po dobu 15 minut. Potom se přidalo přibližně stejné množství vody, jako je objem kaše, a po průchodu sítím o velikosti ok 0,250 mm se získala směs. Tato směs se na sítu promyla vodou, potom se opět převedla na kaši s množstvím vody, odpovídajícím předešle přidanému množství. Kaše se upravila přidáním kyseliny chlorovodíkové na hodnotu pH přibližně 7, zbavila se vody na filtračním papíru a vysušila se.

Imobilizace bakterií na nosiči

10 g granulované celulózy z příkladu 1 se převedla na kaši v destilované vodě, a nechala se nasáknout 5 hodin za občasného promíchání. Hydratovaný nosič se potom dekantoval destilovanou vodou a přenesl se do skleněné kolony o vnitřním průměru 15 mm, kde vytvořil lože o výšce 145 mm. Bakterie typu *Lactobacillus amylovorus* produkující kyselinu mléčnou se kultivovaly v mladině bez chmelu nebo chmelového extraktu po dobu 48 hodin při teplotě 46 °C. Ložem nosiče se pročerpávalo 50 ml suspenze buněk rychlostí průtoku 25 ml za hodinu, a následně se nosičem pročerpávalo dalších 50 ml destilované vody. Výtok z kolony se zachycoval, dokud nebyl čirý, přičemž celkové množství činilo 75 ml.

Úprava mladiny s imobilizovanými bakteriemi, produkujícími kyselinu mléčnou

Do bioreaktoru typu podle příkladu 2, o průměru 90 cm a výšce lože 40 cm se přivedla mladina při teplotě 48 °C a přetlaku 0,5 MPa, s dobou styku 20 minut. Obsah cukru přivedené mladiny byl 15,1 % podle refraktometrické stupnice Brixho a hodnota pH činila 5,50. Hodnota pH na výtoku z kolony byla 3,85 a koncentrace kyseliny mléčné byla 6 g/l.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob výroby nealkoholického piva, jímž se upraví hodnota pH mladiny bakteriemi produkujícími kyselinu mléčnou, **v y z n á č u j í c í s e t í m**, že obsahuje následující stupně:

a) mladina bez obsahu chmelu nebo chmelového extraktu se nechá protékat bioreaktorem, obsahujícím imobilizované bakterie produkující kyselinu mléčnou na povrchu nestlačitelného nosiče, který sestává z kontinuální porézní základní hmoty nebo z důlkovaných nebo retikulárních porézních částic, přičemž struktura této základní hmoty nebo těchto částic je tvořena volně asociovanými mikročásticemi nebo mikrovlákný, vzájemně spojenými chemicky, adhezně nebo mechanicky, alespoň v některých spojovacích místech mezi jednotlivými mikročásticemi nebo mikrovlákný, kde tyto mikročástice nebo mikrovlákná sestávají z materiálu, zejména pryskyřice, s vlastnostmi měniče aniontů,

b) dále se okyselená mladina, která se získá z bioreaktoru, nechá usadit v kontejneru pro dodatečnou úpravu,

c) dále se takto upravená okyselená mladina z kontejneru pro dodatečnou úpravu smíchá s neokyselenou mladinou pro úpravu na předepsanou hodnotu pH a

d) tato směs se dále zpracovává známým způsobem na nealkoholické pivo.

5

2. Způsob podle nároku 1, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že mladina, použitá ve stupni a) se předem upravuje tak, že se zbavuje nerozpustných složek a zejména se vaří nebo se stripuje bublinami dusíku, oxidu uhličitého nebo páry nebo se vyčeří.

10

3. Způsob podle nároků 1 nebo 2, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že mladina se před svým umístěním do bioreaktoru upraví na teplotu 47 až 52 °C.

4. Způsob podle nároku 3, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že po upravení teploty a po přivedení mladiny do bioreaktoru se mladina uvede do styku s oxidem uhličitým.

15

5. Způsob podle nároků 1 až 4, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že mladina se nechá protékat bioreaktorem ve stupni a) při teplotě 47 až 52 °C, za přetlaku 0,5 MPa, s dobou styku 5 až 60 minut.

20

6. Způsob podle nároků 1 až 5, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že nosičem je pryskyřice, odvozené z celulózy nebo vláken na bázi celulózy, a která je chemicky upravená tak, že má vlastnosti měniče aniontů.

25

7. Způsob podle nároku 6, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že nosič sestává z mikrovláken nebo mikročástic celulózy substituované diethyl-aminoetylenem – celulóza DEAE, které jsou vzájemně aglomerovány polystyrenem.

8. Způsob podle nároků 1 až 7, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že bakteriemi produkujícími kyselinu mléčnou jsou homofermentativně fermentující bakterie.

30

9. Způsob podle nároků 1 až 8, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že bakterie se imobilizují na nosiči tak, že se nosič plněný do bioreaktoru nejdříve steriluje horkým roztokem hydroxidu sodného, neutralizuje se a propláchne se vodou, a potom se ložem nosiče pročerpává suspenze odděleně kultivovaných bakterií.

35

10. Způsob podle nároků 1 až 9, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že kapacita dávkování bakterií na nosiče je 10^8 až 10^{12} buněk bakterií na gram suchého nosiče.

40

11. Způsob podle nároků 1 až 10, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že koncentrace kyseliny mléčné na výtoku z bioreaktoru je 2 až 6 g/l.

12. Způsob podle nároků 1 až 11, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že hodnota pH na výtoku z bioreaktoru je 3,3 až 4,0.

45

13. Způsob podle nároků 1 až 12, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že bakterie se regenerují po několika měsících tak, že se bioreaktor proplachuje několik hodin roztokem hydroxidu sodného, o koncentraci 2 % hmotnostní, při teplotě 60 až 80 °C, potom se roztok sterilizuje, neutralizuje, proplachuje a naplní se nosičem se suspenzí bakterií.

50

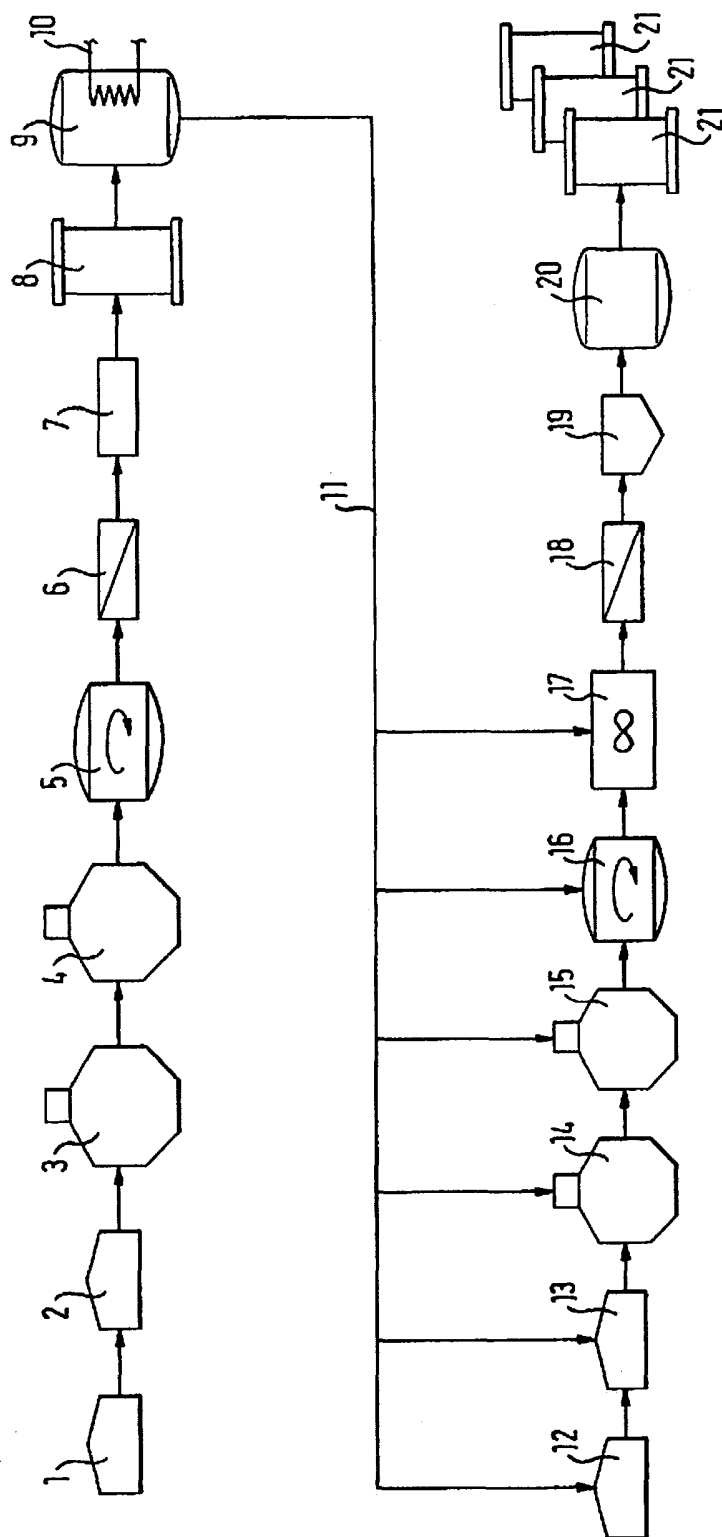
14. Způsob podle nároků 1 až 13, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že doba setrvání v kontejneru pro dodatečnou úpravu se nastaví v kroku b) tak, že koncentrace kyseliny mléčné je 9 až 15 g/l, a hodnota pH je 2,8 až 3,2.

15. Způsob podle nároků 1 až 14, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že okyselená mladina odebraná z kontejneru pro dodatečnou úpravu se smíchá s neokyselenou mladinou pro nastavení na předepsanou hodnotu pH v kroku c) v takovém směšovací poměru, že hodnota pH této směsi je 4 až 4,5, přičemž smíchaná mladina se upravuje ve stupni d) v bioreaktoru fermentováním imobilizovanými kvasinkami.
16. Způsob podle nároků 1 až 14, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že okyselená mladina odebraná z kontejneru pro dodatečnou úpravu se smíchá s neokyselenou mladinou pro nastavení na předepsanou hodnotu pH v kroku c) v takovém směšovací poměru, že hodnota pH této směsi je 5 až 5,5, přičemž smíchaná mladina se upravuje ve stupni d) v bioreaktoru fermentováním neimobilizovanými kvasinkami.
17. Způsob podle nároků 1 až 16, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že neokyselená mladina, která se upravuje na předem stanovenou hodnotu pH, se zbavuje nerozpustných složek a zejména se vaří nebo se stripuje bublinami dusíku, oxidu uhličitého nebo páry nebo se vyčerí před smícháním s okyselenou mladinou.
18. Způsob podle nároků 1 až 16, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že po smíchání ve stupni c) se mladina ochladí na teplotu 0 °C až 2 °C, filtruje se a následně se upravuje fermentováním kvasinkami.
19. Způsob podle nároků 15, 17 a 18, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že kvasinky se imobilizují na povrchu nestlačitelného nosiče, sestávajícího z kontinuální porézní základní hmoty nebo z důlkovaných nebo retikulárních porézních částic, přičemž struktura této základní hmoty nebo těchto částic je tvořena volně asociovanými mikročásticemi nebo mikrovlákný, vzájemně spojenými chemicky, adhezně nebo mechanicky, alespoň v některých spojovacích místech mezi jednotlivými mikročásticemi nebo mikrovlákný, kde tyto mikročástice nebo mikrovlákná sestávají z materiálu, zejména pryskyřice, s vlastnostmi měniče aniontů.
20. Způsob podle nároku 19, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že nosičem je pryskyřice, odvozené z celulózy nebo vláken na bázi celulózy, a která je chemicky upravená tak, že má vlastnosti měniče aniontů.
21. Způsob podle nároku 20, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že nosič sestává z mikrovláken nebo z mikročástic celulózy substituované diethyl-aminoethylenem, které jsou aglomerované polystyrenem.
22. Zařízení k provádění způsobu výroby podle nároků 1 až 21, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že sestává z výrobní linky, tvořené kádí (1) k výrobě díla, spojenou s nádobou (2) pro odstraňování nerozpustných složek, spojenou s varnou nádobou (3), spojenou s vystíracím zařízením (4), které je dále spojeno s vířivou čerací lázní (5), spojenou s tepelným výměníkem (6), spojeným se zařízením (7) k přivádění CO₂ do mladiny, které je spojeno s bioreaktorem (8) obsahujícím bakterie produkující kyselinu mléčnou, imobilizovanými na povrchu nosiče, jak je definován v bodě a) nároku 1, přičemž bioreaktor (8) je dále spojen s kontejnerem (9) pro dodatečnou úpravu, opatřeným regulačním přístrojem (10) pro nastavení teploty v kontejneru (9) pro dodatečnou úpravu, přičemž kontejner (9) pro dodatečnou úpravu, je dále spojen s potrubím (11) pro přivádění okyselené mladiny z kontejneru (9) do jednoho nebo více dalších zařízení (12) až (17), tvořených kádí (12) k výrobě díla, spojenou s nádobou (13) pro odstraňování nerozpustných složek, spojenou s varnou nádobou (14), spojenou s vystíracím zařízením (15), které je spojeno s vířivou čerací lázní (16), spojenou s míchačkou (17), přičemž míchačka (17) je dále spojena s chladicím zařízením (18) směsi okyselené a neokyselené mladiny, kde chladicí zařízení (18) je spojeno s filtrační jednotkou (19), spojenou se zásobní nádrží (20), k níž je připojen alespoň jeden bioreaktor (21) s imobilizovaným nebo neimobilizovanými kvasinkami.

23. Zařízení podle nároku 22, vyznačující se tím, že bioreaktor (21) je tvořen řadou kolon, které jsou pod tlakem a jsou uspořádány vzájemně paralelně.

5

1 výkres



Konec dokumentu