



(12) **BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) 
1-0022192

(51)⁷ **B01D 39/02, 41/02, B01J 20/26, C12H** (13) **B**
1/04, 1/06

(21)	1-2013-00548	(22)	18.07.2011		
(86)	PCT/NL2011/050524	18.07.2011	(87)	WO2012/011808	26.01.2012
(30)	10170417.9	22.07.2010	EP		
(45)	25.11.2019	380	(43)	27.05.2013	302
(73)	HEINEKEN SUPPLY CHAIN B.V. (NL) Burgemeester Smeetsweg 1, NL-2382 PH Zoeterwoude, The Netherlands				
(72)	NOORDMAN, Tom Reinoud (NL), VAN DER NOORDT, Marcel (NL), RICHTER, Anneke (NL)				
(74)	Công ty Luật TNHH quốc tế BMVN (BMVN INTERNATIONAL LLC)				

(54) **PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT ĐỒ UỐNG LÊN MEN BẰNG NẤM MEN**

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất đồ uống lên men bằng nấm men bao gồm các bước: a) lên men dịch hèm bằng nấm men có hoạt tính sinh học để tạo ra dịch lên men; b) tùy ý loại bỏ nấm men ra khỏi dịch lên men; c) trộn dịch lên men với các hạt polyvinylpolypyrrolidon (PVPP); d) lọc dịch lên men chứa các hạt PVPP qua bộ lọc màng thứ nhất; e) kết hợp phần bã thứ nhất với dung dịch nước tái sinh; f) lọc hỗn hợp của phần bã thứ nhất và dung dịch tái sinh qua bộ lọc màng thứ hai; và g) sau khi tùy ý tinh chế thêm các hạt PVPP đã được tái sinh chứa trong phần bã thứ hai, tuần hoàn các hạt PVPP đã được tái sinh trở lại bước c; trong đó các thành phần phân tử lớn có trong phần bã thứ nhất của bước d và/hoặc được giữ lại trên bộ lọc thứ hai của bước f, được làm thoái biến bằng cách sử dụng chất làm thoái biến.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp làm ổn định các đồ uống lên men bằng nấm men. Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến phương pháp làm ổn định đồ uống lên men bằng nấm men bằng cách kết hợp dịch được lên men bằng nấm men với các hạt polyvinylpolypyrrolidon (PVPP) để liên kết ít nhất một phần các polyphenol và/hoặc các protein có trong dịch lên men này với các hạt PVPP này; loại bỏ huyền phù đặc chứa các hạt PVPP ra khỏi dịch lên men; và tái sinh các hạt PVPP này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Đồ uống lên men bằng nấm men, như bia, được làm ổn định để đảm bảo mùi vị và vẻ bề ngoài của đồ uống này ở cuối thời hạn sử dụng vẫn tốt như sau khi được đóng gói. Vì sự đánh giá đầu tiên của người sử dụng là đánh giá cảm quan, nên độ trong được coi là một số đo chất lượng của bia. Ngoài một vài ngoại lệ đặc biệt, người tiêu dùng mong muốn sản phẩm sáng, hấp dẫn, không bị đục.

Chất đục dạng keo trong bia là do sự tạo thành các phức chất polyphenol-protein trong quá trình bảo quản. Bia tươi chứa các protein axit và nhiều loại polyphenol. Trong khi các chất này có thể tạo ra các phức chất bằng liên kết hydro không bền, khối lượng phân tử thấp của chúng nghĩa là chúng quá nhỏ để có thể nhìn thấy bằng mắt thường. Khi các polyphenol nhỏ này còn được gọi là các flavanoit, polyme hóa và oxy hóa, chúng tạo ra các polyphenol mạch ngắn (đặc) được gọi là các tanoit. Các tanoit này có khả năng tạo cầu nối với một số protein bằng liên kết hydro để tạo ra chất đục lạnh thuận nghịch. Sau khi bảo quản thêm, các liên kết ion và liên kết cộng hóa trị mạnh hơn xảy ra giữa các tanoit và các protein tạo ra chất đục cố định không thuận nghịch. Tốc độ và mức độ xảy ra quá trình này bị ảnh hưởng bởi các nguyên liệu, quy trình nấu bia và các điều kiện bảo quản và có thể được cải thiện nhiều (được giảm) nhờ việc sử dụng các chất hỗ trợ ổn định.

Vì yếu tố quyết định tốc độ của sự phát triển chất đục là sự thay đổi phần polyphenol, nên việc làm giảm các mức của các tiền chất gây đục này là phương pháp rất hữu hiệu để đảm bảo tính ổn định chất keo của bia. Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP) là polyme liên kết ngang của (poly)vinylpyrrolidon, chất này không tan trong nước. Các hạt PVPP có độ xốp cao được sử dụng trong công nghiệp nấu bia để hấp phụ các polyphenol

gây đục. PVPP tạo phức một cách chọn lọc các polyphenol gây đục, chủ yếu thông qua liên kết hydro rất mạnh, với nhiều nhánh gắn kết đối với các polyphenol gây đục. Cấu trúc phân tử của polyme PVPP làm hạn chế liên kết hydro bên trong, tối đa hóa số lượng các vị trí có thể phản ứng có sẵn.

Các chất ổn định PVPP được tối ưu hóa để dùng một lần, ở đó chúng được bổ sung vào dòng bia và được loại bỏ bằng bộ lọc silicagen hoặc, đối với loại tái sinh, được bổ sung vào bia trong bằng cách sử dụng các bộ lọc riêng và được tái chế để sử dụng lại. Trong cả hai mô hình này, nhiều đặc tính thao tác ban đầu là thông dụng. Bột PVPP được tạo huyền phù đặc trong thùng định lượng bằng cách sử dụng nước đã khử không khí được làm mềm với nồng độ nằm trong khoảng từ 8 đến 12% (khối lượng/thể tích). Vật liệu phải được khuấy trong ít nhất 15 phút để trương nở và hydrat các hạt. Sau đó, huyền phù đặc được giữ trong điều kiện khuấy không đổi để ngăn sự lắng kết. Trong trường hợp loại tái sinh, thùng định lượng chất ổn định thường được giữ ở nhiệt độ 80°C để đảm bảo tính ổn định của vi khuẩn trong thời gian dài.

Phương pháp phổ biến nhất để bổ sung PVPP dùng một lần là định lượng liên tục vào dòng bia bằng cách sử dụng bơm định lượng. Mặc dù PVPP có thể rất hữu hiệu với thời gian tiếp xúc ngắn, song thời gian tiếp xúc nằm trong khoảng từ 5 đến 10 phút giữa thời điểm bổ sung và thời điểm loại bỏ PVPP đã dùng bằng bộ lọc silicagen được khuyến cáo là có hiệu suất tối đa. PVPP nên được bổ sung vào bia lạnh, ở nhiệt độ 0°C hoặc thấp hơn, để ngăn sự hòa tan lại của các phức chất polyphenol-protein đã được tạo ra.

Nguyên tắc của việc sử dụng PVPP tái sinh được là phá vỡ các liên kết PVPP-polyphenol thông qua việc rửa vật liệu này bằng dung dịch kiềm (NaOH). Việc tái sinh được coi là kinh tế nếu nhà máy bia ổn định được lượng sản phẩm lớn và/hoặc bia được làm ổn định có hàm lượng polyphenol cực kỳ cao, đòi hỏi tốc độ bổ sung PVPP cao để làm ổn định dạng keo hữu hiệu. Các loại PVPP tái sinh được sản xuất riêng để tạo ra các hạt cỡ lớn và độ bền cơ học cao, mà vẫn tạo ra sự khử polyphenol hữu hiệu. Các bộ lọc kiểu tấm ngang là các thiết kế ban đầu để sử dụng và tái sinh PVPP, tuy nhiên các bộ lọc kiểu nền ngày nay cũng đang được sử dụng.

Việc điều chế ban đầu các loại PVPP tái sinh rất giống với việc điều chế sản phẩm dùng một lần. Cần có thùng tạo huyền phù đặc riêng, thùng này thường được trang bị vỏ gia nhiệt. Đầu tiên, bộ lọc trống được thổi CO₂ và lớp phủ sơ bộ chứa PVPP tái sinh được

có độ dày khoảng 1-2 mm được kết tủa trên các lưới lọc. Huyền phù đặc của chất làm ổn định được tái tuần hoàn quanh bộ lọc cho đến khi nước ở kính quan sát hoặc điểm đo là trong. PVPP được định lượng vào dòng bia tới bằng cách sử dụng bơm định lượng. Chu trình làm ổn định hữu hiệu được hoàn tất khi khoảng trống giữa các đĩa lọc được điền đầy PVPP. Thể tích cuối cùng của bia đã được làm ổn định phụ thuộc vào kích thước của bộ lọc, việc nạp PVPP và tốc độ bổ sung vào bia và có thể dao động cho vài nghìn hl.

Cuối giai đoạn lọc và làm ổn định, bia còn dư được quay trở lại thùng thu hồi bia. PVPP đã sử dụng được tái sinh bằng cách tuần hoàn dung dịch kiềm (từ 1 đến 2% theo trọng lượng), ở nhiệt độ từ 60 đến 80°C qua lớp lọc PVPP trong thời gian từ 15 đến 30 phút. Đôi khi, việc rửa bằng kiềm lần thứ hai được sử dụng, với chu kỳ đầu tiên chạy để xả và chu kỳ thứ hai được giữ lại để tái sử dụng làm nước rửa kiềm thứ nhất ở giai đoạn tái sinh tiếp theo. Màu của dung dịch kiềm đi ra ngoài bộ lọc là rất đen, cho thấy việc phá vỡ các phức chất PVPP-polyphenol mạnh. Sau đó, bã lọc PVPP được phun rửa bằng nước nóng ở nhiệt độ 80°C để thải dung dịch kiềm và làm giảm độ pH. Tiếp theo là chu kỳ rửa bằng axit loãng trong 20 phút cho đến khi dung dịch ra khỏi bộ lọc đạt tới độ pH=4. Các cặn từ bia và nước được loại bỏ hữu hiệu và kết quả tốt nhất đạt được bằng cách gia nhiệt sơ bộ axit loãng đến nhiệt độ khoảng 60°C. Sau đó, bộ lọc này được phun rửa bằng nước lạnh cho đến khi axit được rửa hết và độ pH ở đầu ra là trung tính. Cuối cùng, CO₂, nước và lực ly tâm quay các thành phần trong bộ lọc được sử dụng để tháo PVPP được tái sinh ra khỏi các lưới lọc đến thùng định lượng. Hàm lượng chất rắn (PVPP) trong thùng định lượng được kiểm tra và vật liệu mới được bổ sung vào để bù lại lượng đã mất. Lượng đã mất này thường nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1% trên một lần tái sinh. Tuy nhiên, đây là chi phí phần cứng của bộ lọc dung tích lớn chứ không phải là chi phí của chất làm ổn định PVPP, điều này có ảnh hưởng đáng kể hơn đến tính kinh tế của việc tái sinh PVPP.

Do đó, trong khi PVPP dùng một lần có nhược điểm là tạo ra dòng thải đáng kể, PVPP tái sinh được lại có hạn chế là cần sự đầu tư trước đáng kể cho phần cứng của bộ lọc tối tân. Đơn sáng chế Mỹ số 2009/0291164 mô tả quy trình tái sinh chất trợ lọc chứa PVPP bao gồm các bước:

- (i) tạo ra chất trợ lọc chứa sản phẩm đồng ép đùn của PVPP và polyme dẻo nhiệt;
- (ii) xử lý chất trợ lọc này bằng dung dịch kiềm chứa nước;

- (iii) sau đó, xử lý chất trợ lọc này bằng enzym; và
- (iv) sau đó, thực hiện bước xử lý thứ hai bằng dung dịch kiềm chứa nước.

Bằng sáng chế Mỹ số 6,117,459 mô tả phương pháp tái sinh chất trợ lọc chứa polyme tổng hợp hoặc các hạt tự nhiên, chất trợ lọc này được nạp cùng với các tạp chất hữu cơ bao gồm nấm men và các tạp chất bị bẫy trong các lỗ hổng giữa các hạt trợ lọc sau khi lọc chất lỏng có chứa các tạp chất này, và được lắng trên nền lọc của thiết bị lọc, phương pháp này bao gồm các bước:

- rửa chất trợ lọc bằng dung dịch natri cacbonat ở nhiệt độ ít nhất là 80°C trong thời gian từ 60 đến 120 phút;
- tiến hành bước rửa tại chỗ bằng dung dịch natri cacbonat này bằng cách cho dung dịch natri cacbonat đi qua thiết bị lọc theo hướng rửa đồng nhất với hướng của chất lỏng được lọc;
- cho chế phẩm enzym đi qua thiết bị lọc theo hướng rửa ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C trong thời gian từ 100 đến 200 phút, chế phẩm enzym này bao gồm các chất có khả năng phân giải nấm men;
- rửa chất trợ lọc này để loại bỏ sản phẩm thải là các tạp chất hữu cơ, bước rửa này là lần rửa thứ hai bằng dung dịch natri cacbonat để loại bỏ các sản phẩm thải được tạo ra bởi bước cho chế phẩm enzym đi qua; và
- loại bỏ các hạt chất trợ lọc tích tụ trên nền lọc để làm sạch nền lọc này và để sử dụng các hạt chất trợ lọc này cho công đoạn lọc mới.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các tác giả sáng chế đã phát triển phương pháp thay thế để làm ổn định đồ uống lên men bằng nấm men bằng cách xử lý bằng các hạt PVPP và tái sinh các hạt PVPP đã sử dụng để tái sử dụng. Phương pháp theo sáng chế có thể được thực hiện với PVPP dùng một lần cũng như PVPP tái sinh được. Ngoài ra, phương pháp theo sáng chế là rất đơn giản và không đòi hỏi phần cứng bộ lọc có dung tích lớn để tái sinh PVPP.

Theo phương pháp của sáng chế, các hạt PVPP được bổ sung vào dịch lên men bằng nấm men trước khi làm trong. Tiếp theo, dịch lên men chứa các hạt PVPP được lọc qua bộ lọc màng thứ nhất có cỡ lỗ nằm trong khoảng từ 0,1 μm đến 5 μm để tạo ra phần

bã thứ nhất chứa các hạt PVPP. Sau đó, phần bã thứ nhất được kết hợp với dung dịch tái sinh để giải hấp các polyphenol và/hoặc protein ra khỏi các hạt PVPP và làm thoái biến các thành phần phân tử lớn có trong phần bã này và chất lỏng tạo thành được lọc qua bộ lọc màng thứ hai có cỡ lỗ nằm trong khoảng từ 0,1 μm đến 10 μm để tạo ra phần bã thứ hai chứa các hạt PVPP đã được tái sinh. Cuối cùng, sau khi tùy ý tinh chế thêm các hạt PVPP đã được tái sinh, các hạt đã được tái sinh này được tái sử dụng trong phương pháp này.

Cụ thể hơn, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất đồ uống lên men bằng nấm men, phương pháp này bao gồm các bước:

- a) lên men dịch hèm bằng nấm men có hoạt tính sinh học để tạo ra dịch lên men;
- b) tùy ý loại bỏ nấm men ra khỏi dịch lên men này (ví dụ bằng cách ly tâm);
- c) trộn dịch lên men này với các hạt polyvinylpyrrolidon (PVPP), ít nhất 80% khối lượng các hạt PVPP này có đường kính nằm trong khoảng từ 5 μm đến 150 μm ;
- d) lọc dịch lên men chứa các hạt PVPP qua bộ lọc màng thứ nhất có cỡ lỗ nằm trong khoảng từ 0,1 μm đến 5 μm mà không sử dụng chất trợ lọc để tạo ra dịch lên men đã được làm trong và phần bã thứ nhất chứa các hạt PVPP;
- e) kết hợp phần bã thứ nhất với dung dịch nước tái sinh để giải hấp các polyphenol và/hoặc protein ra khỏi các hạt PVPP, dung dịch nước tái sinh này có độ pH ít nhất là 10,0;
- f) lọc hỗn hợp của phần bã thứ nhất và dung dịch tái sinh qua bộ lọc màng thứ hai có cỡ lỗ nằm trong khoảng từ 0,1 μm đến 10 μm mà không sử dụng chất trợ lọc để tạo ra phần bã thứ hai chứa các hạt PVPP đã được tái sinh; và
- g) sau khi tùy ý tinh chế thêm các hạt PVPP đã được tái sinh chứa trong phần bã thứ hai này, tuần hoàn lại các hạt PVPP đã được tái sinh này trở lại bước c;

trong đó các thành phần phân tử lớn có trong phần bã thứ nhất của bước d và/hoặc được giữ lại trên bộ lọc thứ hai của bước f, được làm thoái biến bằng cách sử dụng chất làm thoái biến có khả năng làm thoái biến các protein và/hoặc các polyphenol, chất làm thoái biến này được chọn từ các chất oxy hóa, các enzym và hỗn hợp của chúng.

Phương pháp theo sáng chế có ưu điểm là cho phép thu hồi các hạt PVPP một cách hiệu quả, bao gồm cả các hạt PVPP dùng một lần, để sử dụng lại trong cùng một quy trình. Thứ hai, phương pháp theo sáng chế có ưu điểm là việc tái sinh các hạt PVPP có thể được thực hiện bằng cách sử dụng cùng một bộ lọc màng, bộ lọc này được sử dụng để làm trong dịch lên men, như bia.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo đó, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất đồ uống lên men bằng nấm men, phương pháp này bao gồm các bước:

- a. lên men dịch hèm bằng nấm men có hoạt tính sinh học để tạo ra dịch lên men chứa nấm men, rượu, các polyphenol và protein;
 - b. tùy ý loại bỏ nấm men ra khỏi dịch lên men này;
 - c. trộn dịch lên men này với các hạt polyvinylpolypyrrolidon (PVPP) để liên kết ít nhất một phần các polyphenol và/hoặc các protein có trong dịch lên men này với các hạt PVPP này, ít nhất 80% khối lượng các hạt PVPP này có đường kính nằm trong khoảng từ 5 μm đến 150 μm ;
 - d. lọc dịch lên men chứa các hạt PVPP qua bộ lọc màng thứ nhất có cỡ lỗ nằm trong khoảng từ 0,1 μm đến 5 μm mà không sử dụng chất trợ lọc (khác với các hạt PVPP) để tạo ra dịch lên men đã được làm trong và phần bã thứ nhất chứa các hạt PVPP;
 - e. trộn phần bã thứ nhất với dung dịch nước tái sinh để giải hấp các polyphenol và/hoặc protein ra khỏi các hạt PVPP, dung dịch nước tái sinh này có độ pH ít nhất là 10,0; trong đó chất làm thoái biến có thể được bổ sung vào phần bã thứ nhất trước, sau hoặc cùng với dung dịch tái sinh này;
 - f. lọc hỗn hợp của phần bã thứ nhất và dung dịch tái sinh qua bộ lọc màng thứ hai có cỡ lỗ nằm trong khoảng từ 0,1 μm đến 10 μm mà không sử dụng chất trợ lọc (khác với các hạt PVPP) để tạo ra phần bã thứ hai chứa các hạt PVPP đã được tái sinh; và
 - g. sau khi tùy ý tinh chế thêm các hạt PVPP đã được tái sinh có trong phần bã thứ hai này, tuần hoàn các hạt PVPP đã được tái sinh này trở lại bước c;
- trong đó các thành phần phân tử lớn có trong phần bã thứ nhất của bước d và/hoặc được giữ lại trên bộ lọc thứ hai của bước f, được làm thoái biến bằng cách sử dụng chất

làm thoái biến có khả năng làm thoái biến các protein và/hoặc các polyphenol, chất làm thoái biến này được chọn từ các chất oxy hóa, các enzym và hỗn hợp của chúng.

Thuật ngữ “dịch hèm” được sử dụng ở đây dùng để chỉ chất lỏng được chiết từ quy trình ủ rượu trong quá trình sản xuất bia hoặc rượu whisky chẳng hạn. Dịch hèm chứa đường, được dẫn xuất từ nguồn hạt, như mạch nha, được lên men bằng nấm men nấu rượu bia để tạo ra rượu, mùi vị v.v..

Thuật ngữ “dịch lên men đã được làm trong” dùng để chỉ chất lỏng mà các thành phần tạo đục, bao gồm cả nấm men, đã được loại bỏ ra khỏi chất lỏng này.

Ở đây, bất kể khi nào việc dẫn đến liên kết/giải hấp các polyphenol và/hoặc các protein với/ra khỏi các hạt PVPP có nghĩa là các polyphenol hoặc protein đó được liên kết với hoặc được giải hấp ra khỏi các hạt PVPP dưới dạng như vậy hoặc dưới dạng một phần của các phức chất của các polyphenol và các protein (được polyme hóa) chẳng hạn.

Thuật ngữ “thoái biến các thành phần phân tử lớn” dùng để chỉ việc phá vỡ các thành phần phân tử lớn (ví dụ các thành phần có khối lượng phân tử lớn hơn 1 kDa) thành các phân tử nhỏ hơn.

Thuật ngữ “chất làm thoái biến” được sử dụng ở đây dùng để chỉ chất có khả năng phá vỡ các thành phần phân tử lớn có trong phần bã thứ nhất.

Theo một phương án của phương pháp theo sáng chế, nấm men không bị loại ra khỏi dịch lên men trước khi được kết hợp với các hạt PVPP. Theo phương án này, dịch lên men chứa các hạt PVPP thường chứa nấm men với nồng độ ít nhất là 5 mg nấm men ướt/kg dịch lên men. Tốt hơn nữa nếu nồng độ nấm men nằm trong khoảng từ 10 đến 10.000 mg nấm men ướt/kg dịch lên men, tốt nhất nếu nằm trong khoảng từ 50 đến 10.000 mg nấm men ướt/kg dịch lên men. Như sẽ được mô tả chi tiết hơn dưới đây, nấm men có thể được tách một cách thích hợp ra khỏi các hạt PVPP bởi việc xử lý xuôi dòng như lắng, tuyển nổi, tách bằng hydrocyclon hoặc lọc trên bộ lọc nhỏ có cỡ lỗ lớn nằm trong khoảng từ 10 đến 80 μm .

Theo một phương án khác của phương pháp theo sáng chế, nấm men được loại ra khỏi dịch lên men trước khi dịch lên men này được trộn với các hạt PVPP. Nấm men có thể được loại bỏ một cách thích hợp ở giai đoạn này của phương pháp bằng hydrocyclon, lắng hoặc ly tâm, ly tâm được ưu tiên. Theo phương án này, hàm lượng nấm men của

dịch lên men sau khi loại bỏ nấm men không lớn hơn 50 mg nấm men ướt/kg dịch lên men, tốt hơn nữa nếu không lớn hơn 5 mg nấm men ướt/kg dịch lên men. Lượng nấm men ướt có trong dịch lên men có thể được xác định một cách thích hợp bằng cách đo độ đặc chuẩn, tức là lấy một lượng mẫu thử đã cân ra khỏi dịch lên men, tiếp đó ly tâm lượng mẫu thử này và lắng gạn dịch nổi lên trên và cuối cùng đo khối lượng hạt đã được ly tâm.

Thông thường, theo phương pháp của sáng chế, các hạt PVPP được trộn với dịch lên men với tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 1:100.000 đến 1:100, tốt hơn nữa nếu với tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 1:30.000 đến 1:1000.

Như đã mô tả trên đây, phương pháp theo sáng chế có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các hạt PVPP dùng một lần cũng như các hạt PVPP tái sinh được. Thông thường, các hạt PVPP này có đường kính trung bình gia trọng theo khối lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 300 μm . Theo một phương án, phương pháp theo sáng chế sử dụng các hạt PVPP dùng một lần có đường kính trung bình gia trọng theo khối lượng nằm trong khoảng từ 10 μm đến 60 μm , tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 12 μm đến 50 μm . Theo một phương án khác, phương pháp theo sáng chế sử dụng các hạt PVPP tái sinh được có đường kính trung bình gia trọng theo khối lượng nằm trong khoảng từ 30 μm đến 300 μm , tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 40 μm đến 200 μm .

Tốt hơn nếu các hạt PVPP được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế có diện tích bề mặt riêng lớn hơn 0,1 m^2/g . Thông thường, diện tích bề mặt riêng của các hạt PVPP nằm trong khoảng từ 0,15 đến 5 m^2/g .

Theo một phương án được ưu tiên khác, các hạt PVPP sử dụng trong phương pháp theo sáng chế không phải là sản phẩm đồng ép đùn của PVPP và polyme khác, đặc biệt không phải là sản phẩm đồng ép đùn của PVPP và polyme dẻo nhiệt.

Tốt hơn nếu phần bã thứ nhất thu được bằng cách lọc dịch lên men chứa các hạt PVPP bổ sung chứa các hạt PVPP này với lượng ít nhất 0,1 g/l, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 1 đến 200 g/l.

Tốt hơn nữa nếu ít nhất 95% khối lượng các hạt PVPP ướt có chứa trong phần bã thứ nhất có khối lượng riêng nhỏ hơn 1,2 g/ml, ưu tiên nằm trong khoảng từ 1,0 đến 1,1 g/ml.

Sự kết hợp của phân bã thứ nhất với dung dịch nước tái sinh có thể đạt được một cách thích hợp bằng cách rửa phân bã thứ nhất bằng dung dịch tái sinh này khi phân bã thứ nhất này tiếp xúc trực tiếp với bộ lọc màng thứ nhất, và loại chất lỏng chứa các thành phần được giải hấp và bị thoái biến qua bộ lọc này.

Theo một phương án đặc biệt ưu tiên của sáng chế, bộ lọc màng thứ nhất cũng được sử dụng làm bộ lọc màng thứ hai trong bước e. Bởi vậy, có thể tránh được việc sử dụng bộ lọc bổ sung.

Bước giải hấp/tái sinh e và bước lọc f có thể được thực hiện đồng thời hoặc nối tiếp nhau, mỗi cách có các ưu điểm và nhược điểm riêng của nó. Theo một phương án, bước e bao gồm việc chuyển phân bã thứ nhất đến thùng trộn ở đó phân bã này được trộn với dung dịch tái sinh. Cách này có ưu điểm là nếu bộ lọc màng thứ hai chính là bộ lọc màng thứ nhất, thì bộ lọc màng này có thể được sử dụng để lọc mẻ dịch lên men khác chứa các hạt PVPP trong khi phân bã thứ nhất được tạo ra trong mẻ trước đang được tái sinh trong thùng trộn. Nhờ vậy, bộ lọc màng thứ nhất có thể được sử dụng một cách rất hiệu quả. Ngoài ra, phương án này có ưu điểm là việc tái sinh các hạt PVPP chứa trong phân bã thứ nhất có thể được tối đa hóa bằng cách sử dụng các điều kiện tái sinh tối ưu trong thùng trộn, ví dụ bằng cách khuấy liên tục lượng chất trong thùng và/hoặc bằng cách gia nhiệt lượng chất này (ví dụ đến nhiệt độ 80°C).

Tốt hơn nếu bộ lọc màng thứ nhất được sử dụng trong phương pháp này có cỡ lỗ ít nhất là 0,2 μm . Tốt hơn nếu cỡ lỗ của bộ lọc màng không lớn hơn 2 μm , tốt nhất nếu không lớn hơn 1 μm .

Theo phương pháp của sáng chế, tốt hơn nếu hỗn hợp của phân bã thứ nhất và dung dịch tái sinh mà được lọc qua bộ lọc màng thứ hai có hàm lượng chất rắn lên đến 300 g/l, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 1 đến 200 g/l và tốt nhất nếu nằm trong khoảng từ 10 đến 200 g/l.

Phương pháp theo sáng chế có ưu điểm là các hạt PVPP có thể được thu hồi trong phân bã thứ hai với hiệu suất rất cao. Hiệu suất 80% khối lượng đạt được một cách dễ dàng, và thậm chí hiệu suất 95% khối lượng hoặc lớn hơn là khả thi.

Yếu tố chính của việc tái sinh các hạt PVPP là giải hấp các polyphenol và/hoặc các protein được liên kết với các hạt PVPP. Tốt hơn nếu, các polyphenol và/hoặc các

protein được giải hấp ra khỏi các hạt PVPP bằng cách sử dụng dung dịch tái sinh có độ pH ít nhất là 11,0.

Theo sáng chế, các thành phần phân tử lớn có trong phần bã thứ nhất và/hoặc được giải hấp khỏi các hạt PVPP, một phần của chúng có thể được giữ lại bởi bộ lọc màng thứ hai, được làm thoái biến để ngăn chặn hoặc đảo ngược sự tắc bộ lọc màng thứ hai và để tránh sự tăng áp. Với mục đích này, chất làm thoái biến có khả năng làm thoái biến các polyphenol và/hoặc các protein được sử dụng, chất làm thoái biến này được chọn từ các chất oxy hóa, các enzym và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án của sáng chế, dung dịch tái sinh chứa chất làm thoái biến. Theo một phương án khác, chất làm thoái biến có thể có trong một chế phẩm riêng biệt, thường là chất lỏng chứa nước, chất này có thể được bổ sung vào phần bã thứ nhất trước, sau hoặc cùng với dung dịch tái sinh. Theo một phương án khác nữa, chất lỏng chứa nước chứa chất làm thoái biến được sử dụng để rửa bộ lọc thứ hai sau bước f.

Theo một phương án ưu tiên, chất làm thoái biến bao gồm chất oxy hóa. Chất oxy hóa thường được sử dụng trong chất lỏng chứa nước, tốt hơn nếu là dung dịch tái sinh, ở nồng độ ít nhất là 0,1 g/l, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 0,5 g/l và tốt nhất nếu ít nhất là 1 g/l. Các chất oxy hóa được ưu tiên bao gồm persulfat, hypohalit, peroxit và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án khác, chất làm thoái biến là enzym, tốt hơn nếu enzym được chọn từ proteinaza, các enzym thoái biến carbohydrat (ví dụ, glucanaza), polyphenol oxidaza và hỗn hợp của chúng. Việc lọc dịch lên men và việc tái sinh tiếp các hạt PVPP được hoàn tất một cách thích hợp trong 2 giờ. Tốt hơn nữa nếu các bước này được hoàn tất trong thời gian từ 0,2 đến 1 giờ.

Theo một phương án, đặc biệt có lợi nếu bộ lọc màng thứ nhất của bước d được sử dụng làm bộ lọc màng thứ hai trong bước f và dung dịch tái sinh được sử dụng trong bước e. chứa chất làm thoái biến.

Có lợi nếu phần bã thứ hai được rửa bằng chất lỏng chứa nước có tính axit, tiếp theo là rửa bằng nước, trước khi tuần hoàn các hạt PVPP đã được tái sinh trở lại bước b. Có lợi nếu các bước rửa này được thực hiện bằng cách cho các chất lỏng rửa đi qua phần bã thứ hai khi phần bã này tiếp xúc với bộ lọc màng thứ hai, và loại bỏ chất lỏng rửa qua bộ lọc này.

Để loại bỏ nấm men còn lại có trong phần bã thứ nhất, đặc biệt là khi không loại bỏ nấm men trước khi kết hợp dịch lên men với các hạt PVPP, có lợi nếu giảm lượng nấm men của phần bã thứ nhất trước hoặc sau khi kết hợp phần bã thứ nhất với dung dịch nước tái sinh bằng cách cho phần bã thứ nhất này hoặc hỗn hợp của phần bã thứ nhất và dung dịch nước tái sinh vào bước tách lắng.

Theo một phương án khác, trong trường hợp bộ lọc màng thứ nhất và bộ lọc màng thứ hai là một, đặc biệt có lợi nếu nấm men còn lại được loại ra khỏi phần bã thứ hai trước khi tuần hoàn. Do vậy, tốt hơn nếu phần bã thứ hai được tinh chế thêm trước khi tuần hoàn các hạt PVPP đã được tái sinh bằng cách loại bỏ nấm men ra khỏi phần bã thứ hai bằng cách tách lắng.

Thuật ngữ “tách lắng” như được sử dụng ở đây dùng để chỉ kỹ thuật tách trong đó các hạt rắn nằm lơ lửng trong chất lỏng được tách trên cơ sở khác biệt về khối lượng riêng. Lắng là xu hướng của các hạt trong huyền phù bị lắng ra khỏi chất lỏng trong đó chúng bị cuốn theo chống lại trọng lực và/hoặc lực ly tâm.

Ví dụ về các kỹ thuật tách lắng có thể được sử dụng để loại bỏ nấm men bao gồm lắng, tuyển nổi và tách trong các hydrocyclon; tuyển nổi và tách bằng các hydrocyclon được ưu tiên. Tốt nhất nếu phương pháp theo sáng chế sử dụng việc tuyển nổi để tách nấm men còn lại ra khỏi các hạt PVPP có trong phần bã thứ hai. Thuật ngữ lắng được sử dụng để chỉ sự tách trong đó chỉ có trọng lực được sử dụng để thực hiện việc tách.

Tuyển nổi các hạt được điều chỉnh bởi các cân bằng lực giống như lắng. Tuyển nổi có thể được sử dụng để phân loại chất rắn khi có hỗn hợp của các hạt có khối lượng riêng khác nhau trong huyền phù. Các tác giả sáng chế đã thấy rằng có lợi nếu tuyển nổi có thể được sử dụng để tách các hạt PVPP ra khỏi các tế bào nấm men vì tốc độ lắng của tế bào nấm men có xu hướng cao hơn đáng kể so với tốc độ lắng của các hạt PVPP.

Vì vậy, theo một phương án được đặc biệt ưu tiên, tốt hơn nếu việc loại bỏ nấm men ra khỏi phần bã thứ nhất hoặc phần bã thứ hai bao gồm việc cho chất lỏng chứa phần bã này qua thùng tách theo dòng phân lớp lên trên và bằng cách loại bỏ riêng biệt phần giàu nấm men và phần giàu PVPP, phần giàu PVPP này được loại bỏ ở phía dưới (và phía trên) chỗ mà phần giàu nấm men được loại bỏ. Nên hiểu rằng thuật ngữ “thùng tách” được sử dụng ở đây không được hiểu theo nghĩa hẹp là thùng có thể có hình dạng thích hợp, ví dụ ống đứng.

Để đạt được sự tách hiệu quả các hạt PVPP và tế bào nấm men, tốt hơn nếu cho chất lỏng chứa phần bã thứ hai qua thùng tách ở tốc độ dòng thẳng đứng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 10 mm/s, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 0,04 đến 3 mm/s.

Các hydrocyclon cũng có thể được sử dụng một cách thích hợp để tách nấm men còn lại ra khỏi các hạt PVPP chứa trong phần bã thứ hai. Hydrocyclon là thiết bị để phân loại, tách hoặc chọn các hạt trong huyền phù lỏng trên cơ sở khối lượng riêng của các hạt. Các hydrocyclon thường có phần hình trụ ở đỉnh trong đó chất lỏng được cấp theo phương tiếp tuyến, và đáy hình côn. Hydrocyclon có hai cửa ra trên cùng một trục: cửa nhỏ ở đáy (dòng dưới hoặc loại bỏ) và cửa lớn hơn ở đỉnh (dòng trên hoặc chấp nhận). Dòng dưới thường là phần nặng hơn hoặc đặc hơn, trong khi phần trên là phần nhẹ hơn hoặc lỏng hơn.

Theo phương pháp của sáng chế, phần giàu PVPP được tạo ra bằng cách tách lắng phần bã thứ nhất được lọc tiếp qua bộ lọc màng thứ hai. Phần giàu PVPP thu được bằng cách tách lắng phần bã thứ hai được tuần hoàn lại bước b.

Tốt hơn nếu bước tách lắng sử dụng trong phương pháp theo sáng chế tạo ra phần giàu PVPP trong đó tỷ lệ khối lượng giữa các hạt PVPP với nấm men cao hơn đáng kể so với tỷ lệ khối lượng tương tự trong phần giàu nấm men. Do vậy, theo một phương án ưu tiên, tỷ lệ khối lượng giữa các hạt PVPP với nấm men của phần giàu PVPP cao hơn ít nhất 3 lần, tốt hơn nữa nếu ít nhất 5 lần tỷ lệ khối lượng tương tự của phần giàu nấm men.

Tương tự, nồng độ nấm men của phần giàu nấm men cao hơn ít nhất 3 lần, tốt hơn nếu ít nhất 5 lần nồng độ tương tự trong phần giàu PVPP.

Phương pháp theo sáng chế có thể được thực hiện dưới dạng quy trình theo mẻ, quy trình bán liên tục hoặc quy trình liên tục. Tốt hơn nếu quy trình được thực hiện dưới dạng quy trình theo mẻ.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được minh họa thêm bởi các ví dụ không giới hạn sau.

Huyền phù đặc mới được điều chế chứa các hạt PVPP loại sử dụng một lần (Polyclar® 10, được cung cấp bởi ISP) được định lượng vào bia chưa được làm ổn định Heineken® trước khi lọc màng (cỡ lỗ 0,5 µm). Sau 3 giờ lọc ở tốc độ 8 hl/h trên bộ lọc

màng (với diện tích lọc 10 m²), huyền phù đặc trong phần bã được rửa bằng nước để loại bỏ bia.

Sau đó, phần bã này được rửa bằng dung dịch NaOH 2%, kết hợp với natri hypoclorit 0,2% dưới dạng chất oxy hoá, ở nhiệt độ 40°C trong 20 phút, để tái sinh PVPP. Khi dịch lọc trở nên trong, phần bã chứa PVPP được rửa bằng nước, axit và nước. Tiếp tục bước lọc bia tiếp theo và sau đó tăng áp theo thời gian. Thử nghiệm được lặp lại với natri persulfat 0,5% thay cho natri hypoclorit làm chất oxy hóa và PVPP tái sinh được (Divergan® RS, do BASF cung cấp) thay cho loại sử dụng một lần (Polyclar® 10).

Bảng 1 thể hiện các áp suất khởi đầu (ΔP) và mức tăng áp theo thời gian ($d\Delta P/dt$) trong quá trình lọc bia trước và sau bước tái sinh PVPP diễn ra trên bộ lọc màng. Các kết quả cho thấy rằng khi PVPP được tái sinh chỉ bằng dung dịch kiềm, mức tăng áp theo thời gian và áp suất khởi đầu của bước lọc tiếp theo cao hơn nhiều so với khi các chất oxy hóa được sử dụng (hypoclorit kết hợp với Polyclar® 10, persulfat kết hợp với Divergan® RS). Điều này có thể được giải thích bởi thực tế là các mẫu vụn được giải hấp ra khỏi PVPP làm bít bộ lọc màng. Bằng cách sử dụng các chất oxy hoá cùng với việc tái sinh bằng kiềm có thể giảm thiểu sự làm bẩn bộ lọc màng như vậy.

Bảng 1. Mức tăng áp trong quá trình lọc bia trên bộ lọc màng trước và sau bước tái sinh PVPP được thực hiện trên cùng một bộ lọc

Thử nghiệm tái sinh Polyclar® 10 chỉ với dung dịch kiềm 2%					
	Thời điểm bắt đầu (giờ:phút)	$\Delta P_{\text{bắt đầu}}$ (bar(KPa))	Thời điểm kết thúc (giờ:phút)	$\Delta P_{\text{kết thúc}}$ (bar(KPa))	$d\Delta P/dt$ (bar(KPa)/h)
Trước khi tái sinh	0:00	0,290 (29)	3:13	0,82 (82)	0,16 (16)
Sau khi tái sinh	0:00	0,737 (73,7)	0:40	1,02 (102)	0,42 (42)
Thử nghiệm tái sinh Polyclar® 10 với dung dịch kiềm 2% và natri hypoclorit 0,2%					
	Thời điểm bắt	ΔP	Thời điểm kết thúc	ΔP	$d\Delta P/dt$

	đầu (giờ:phút)	(bar(KPa))	(giờ:phút)	(bar(KPa))	(bar(KPa)/h)
Trước khi tái sinh	0:00	0,229 (22,9)	3:19	0,423 (42,3)	0,06 (6)
Sau khi tái sinh	0:00	0,269 (26,9)	1:29	0,504 (50,4)	0,16 (16)
Thử nghiệm tái sinh Divergan® RS bằng dung dịch kiềm 2% và natri persulfat 0,5%					
	Thời điểm bắt đầu (giờ:phút)	ΔP (bar(KPa))	Thời điểm kết thúc (giờ:phút)	ΔP (bar(KPa))	$d\Delta P/dt$ (bar(KPa)/h)
Trước khi tái sinh	0:00	0,310 (31)	2:42	0,420 (42)	0,04 (4)
Sau khi tái sinh	0:00	0,369 (36,9)	0:59	0,456 (45,6)	0,09 (9)

Các mẫu thử huyền phù đặc PVPP mới chưa sử dụng và phần bã chứa PVPP sau khi tái sinh được lấy để đo khả năng hấp phụ. PVPP loại sử dụng một lần mới chưa sử dụng (Polyclar® 10) có khả năng hấp phụ 63,8%, khi được đo bằng phân tích tiêu chuẩn trong đó dung dịch catechin được cho tiếp xúc với lượng PVPP xác định và mức giảm catechin trong dung dịch này được xem là số đo khả năng hấp phụ. PVPP khi được tái sinh bằng phương pháp mô tả trên đây với natri hypoclorit có khả năng hấp phụ 58,9%. Khả năng hấp phụ của PVPP đã được sử dụng nằm trong khoảng từ 5 đến 8%.

Với PVPP loại tái sinh được (Divergan® RS), khả năng hấp phụ của PVPP mới và PVPP đã được tái sinh bằng natri persulfat lần lượt là 44,4% và 42,4%. Khả năng hấp phụ của PVPP đã được sử dụng là 14%.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp sản xuất đồ uống lên men bằng nấm men, phương pháp này bao gồm các bước:

- a) lên men dịch hèm bằng nấm men có hoạt tính sinh học để tạo ra dịch lên men chứa nấm men, rượu, các polyphenol và protein;
- b) tùy ý loại bỏ nấm men ra khỏi dịch lên men này;
- c) trộn dịch lên men này với các hạt polyvinylpolypyrrolidon (PVPP) để liên kết ít nhất một phần các polyphenol và/hoặc các protein chứa trong dịch lên men này với các hạt PVPP này, ít nhất 80% khối lượng của các hạt PVPP này có đường kính nằm trong khoảng từ 5 μm đến 150 μm ;
- d) lọc dịch lên men chứa các hạt PVPP qua bộ lọc màng thứ nhất có cỡ lỗ nằm trong khoảng từ 0,1 μm đến 5 μm mà không sử dụng chất trợ lọc để tạo ra dịch lên men đã được làm trong và phần bã thứ nhất chứa các hạt PVPP;
- e) kết hợp phần bã thứ nhất này với dung dịch nước tái sinh để giải hấp các polyphenol và/hoặc protein ra khỏi các hạt PVPP, dung dịch nước tái sinh này có độ pH ít nhất là 10;
- f) lọc hỗn hợp gồm phần bã thứ nhất và dung dịch tái sinh qua bộ lọc màng thứ hai có cỡ lỗ nằm trong khoảng từ 0,1 μm đến 10 μm mà không sử dụng chất trợ lọc để tạo ra phần bã thứ hai chứa các hạt PVPP đã được tái sinh; và
- g) sau khi tùy ý tinh chế thêm các hạt PVPP đã được tái sinh chứa trong phần bã thứ hai này, tái tuần hoàn các hạt PVPP đã được tái sinh này trở lại bước c;

trong đó các thành phần phân tử lớn có trong phần bã thứ nhất trong bước d và/hoặc được giữ lại trên bộ lọc thứ hai trong bước f, được làm thoái biến bằng cách sử dụng chất làm thoái biến có khả năng làm thoái biến các protein và/hoặc các polyphenol, chất làm thoái biến này được chọn từ các chất oxy hóa, các enzym và các hỗn hợp của chúng.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bộ lọc màng thứ nhất trong bước d được sử dụng làm bộ lọc màng thứ hai trong bước f.

3. Phương pháp theo điểm 2, trong đó các bước e và f được thực hiện đồng thời.

4. Phương pháp theo điểm 1, trong đó các bước e và f được thực hiện nối tiếp nhau.

5. Phương pháp theo điểm 4, trong đó bước e bao gồm việc chuyển phần bã thứ nhất đến thùng trộn ở đó phần bã này được trộn với dung dịch tái sinh.
6. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó bộ lọc màng thứ nhất có cỡ lỗ nằm trong khoảng từ 0,2 μm đến 1 μm .
7. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó ít nhất 80% khối lượng, tốt hơn là ít nhất 95% khối lượng các hạt PVPP được sử dụng trong phương pháp này được thu hồi trong phần bã thứ hai.
8. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó bước e bao gồm việc kết hợp phần bã thứ nhất với chất làm thoái biến.
9. Phương pháp theo điểm 8, trong đó dung dịch tái sinh bao gồm chất làm thoái biến.
10. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó chất làm thoái biến bao gồm chất oxy hóa, tốt hơn là chất oxy hóa được lựa chọn từ các persulfat, các hypohalit, các peroxit và các hỗn hợp của chúng.
11. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó chất làm thoái biến bao gồm enzym, tốt hơn là enzym được lựa chọn từ các proteinaza, các enzym làm thoái biến carbohydrat, các polyphenol oxidaza và các hỗn hợp của chúng.
12. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó việc kết hợp dịch lên men và các hạt PVPP đạt được bằng cách trộn dịch lên men với các hạt PVPP này.
13. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó các hạt PVPP được kết hợp với dịch lên men theo tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 1:100.000 đến 1:100, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1:30.000 đến 1:1.000.
14. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó phần bã thứ nhất chứa các hạt PVPP với lượng ít nhất là 0,5 g/l, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1 đến 200 g/l.
15. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó nấm men được loại bỏ khỏi phần bã thứ nhất trước hoặc sau khi kết hợp phần bã thứ nhất này với dung dịch nước tái sinh bằng cách cho phần bã thứ nhất này hoặc hỗn hợp của phần bã thứ nhất và dung dịch nước tái sinh qua bước tách lắng.

16. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14, trong đó phần bã thứ hai được tinh chế thêm trước khi tái tuần hoàn các hạt PVPP đã được tái sinh bằng cách loại bỏ nấm men ra khỏi phần bã thứ hai này bằng quá trình tách lắng.

17. Phương pháp theo điểm 13 hoặc 14, trong đó kỹ thuật tách lắng được sử dụng được lựa chọn từ tách tuyển nổi và tách bằng hydrocyclon.