

# PATENTOVÝ SPIS

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2011-109**  
(22) Přihlášeno: **02.03.2011**  
(40) Zveřejněno: **07.03.2012**  
(Věstník č. 10/2012)  
(47) Uděleno: **26.01.2012**  
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **07.03.2012**  
(Věstník č. 10/2012)

(11) Číslo dokumentu:

## 303 042

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:  
*C12C 11/00* (2006.01)  
*C12Q 1/00* (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:  
CN 2412016 Y; DE 3607582 A1; JP 2000125842 A; WO 9714781 A.

(73) Majitel patentu:  
Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., Praha 2,  
CZ  
(72) Původce:  
Kosař Karel RNDr. CSc., Brno, CZ  
Kubizniaková Petra Ing., Praha 9 - Horní Počernice, CZ  
(74) Zástupce:  
Ing. Dobroslav Musil, patentová kancelář, Ing.  
Dobroslav Musil, Cejl 38, Brno, 60200

(54) Název vynálezu:  
**Způsob provádění kvasných zkoušek**

(57) Anotace:  
Řešení se týká způsobu provádění kvasných zkoušek, u kterého se mladina zakvasí zvoleným produkčním kmenem pivovarských kvasinek o koncentraci  $10 \times 10^6$  až  $22 \times 10^6$  buněk/ml mladiny a zakvašená mladina o objemu do 5 litrů se umístí do otevřeného kónického válce, který se následně uloží do prostředí s řízenou teplotou, ve kterém dochází k hlavnímu kvašení mladiny, které se následně po předem stanovené době a/nebo po dosažení předem stanovené hodnoty některého z parametrů kvasící mladiny ukončí, přičemž se alespoň jednou sledují parametry kvasící mladiny ze skupiny zdánlivý obsah extraktu, stupeň zdánlivého prokvašení, obsah alkoholu, růstová křivka kvasinek, sedimentace kvasinek a/nebo mladého piva ze skupiny obsah extraktu, rychlost zkvašování extraktu, stupeň zdánlivého prokvašení, obsah alkoholu, obsah vicinálních diketonů, obsah  $\text{SO}_2$ , obsah těkavých látek, obsah dusíku, obsah hořkých látek, obsah redukujících cukrů, přítomnost vitamínů skupiny B.

CZ 303042 B6

## Způsob provádění kvasných zkoušek

### Oblast techniky

5

Vynález se týká způsobu provádění kvasných zkoušek, u kterého se mladina zakvasí zvoleným produkčním kmenem pivovarských kvasinek o koncentraci  $10 \times 10^6$  až  $22 \times 10^6$  buněk/ml mladiny.

### 10 Dosavadní stav techniky

Pro ověřování, sledování a srovnávání technologických vlastností různých produkčních kmenů pivovarských kvasinek, srovnávání vlivu složení mladiny a dalších faktorů, jako například velikosti zákvasné dávky, teploty vedení kvašení, osmotického tlaku, apod. na průběh kvašení (fermentace), chování kvasinek a na parametry mladého piva, jako například stupeň prokvašení, obsah etanolu, diacetylu, senzory aktivních látek atd., se v současné době provádí modelové kvasné zkoušky. Aby nedošlo k ovlivnění některého ze sledovaných parametrů a samotného průběhu kvasné zkoušky odběrem vzorků, provádí se tyto zkoušky na relativně velkém objemu mladiny, který obvykle odpovídá čtvrtprovoznímu, případně poloprovoznímu množství. Díky tomu jsou výsledky těchto zkoušek relativně přesné, avšak jejich provádění je značně finančně náročné, a například pro menší pivovary v podstatě nedostupné. Větším pivovarům pak brání tyto vysoké náklady v testování různých kombinací produkčních kmenů pivovarských kvasinek a podmínek kvašení, a tím nalezení vhodnějších postupů pro výrobu piva, nebo optimalizování těch stávajících.

25

V různých provozech se navíc kvasné zkoušky provádějí různými způsoby, které se liší nejen délkou zkoušky, četností odběru vzorků, použitým technickým vybavením, ale i podmínkami, za kterých zkouška probíhá, a množství použité mladiny. Z tohoto důvodu je značně obtížné, ne-li zcela nemožné, srovnávat či ověřovat výsledky kvasných zkoušek provedených v různých provozech, případně aplikovat jejich výsledky mimo tento provoz, atd.

30

Cílem vynálezu je odstranit nebo alespoň eliminovat nevýhody stavu techniky.

### 35 Podstata vynálezu

Cílem vynálezu se dosáhne způsobem provádění kvasných zkoušek, u kterého se mladina zakvasí zvoleným produkčním kmenem pivovarských kvasinek o koncentraci  $10 \times 10^6$  až  $22 \times 10^6$  buněk/ml mladiny, přičemž se takto zakvašená mladina o objemu do 5 litrů umístí do otevřeného kónického válce, který se následně uloží do prostředí s řízenou teplotou, ve kterém dochází k hlavnímu kvašení mladiny, které se po předem stanovené době a/nebo po dosažení předem stanovené hodnoty některého z parametrů kvasící mladiny ukončí. Přitom se alespoň jednou sleduje parametry kvasící mladiny ze skupiny zdánlivý obsah extraktu, alespoň zdánlivého prokvašení, obsah alkoholu, růstová křivka kvasinek, sedimentace kvasinek a/nebo parametry mladého piva ze skupiny obsah extraktu, rychlost zkvašení extraktu, alespoň zdánlivého prokvašení, obsah alkoholu, obsah vicinálních diketonů, obsah  $\text{SO}_2$ , obsah těkavých látek, obsah dusíku, obsah hořkých látek, obsah redukujících cukrů, přítomnost vitamínů skupiny B, apod. Tyto parametry pak dávají dostatečný přehled o vlivu různých podmínek, jako je například teplota hlavního kvašení a/nebo složení mladiny a/nebo použitý produkční kmen pivovarských kvasinek na průběh hlavního kvašení a vlastnosti mladého piva.

50

Pro získání dostatečně přesných údajů o průběhu kvasné zkoušky postačuje v některých případech i jen 1 litr zakvašené mladiny.

Hlavní kvašení probíhá s výhodou při teplotě 9 až 16 °C, která simuluje reálné podmínky při výrobě piva.

Pro stanovení požadovaných parametrů kvasící mladiny se z ní během kvasné zkoušky alespoň jednou odebere vzorek o objemu 5 až 10 ml, u kterého se na přenosném refraktometru s korekcí na teplotu vzorku stanoví změna refrakce mladiny, z jejíž hodnoty a z hodnoty původního obsahu extraktu v mladině se prostřednictvím regresní rovnice sestavené pro použitý refraktometr vypočte zdánlivý obsah extraktu v mladině a/nebo stupeň zdánlivého prokvašení mladiny a/nebo obsah alkoholu v mladině.

Vzorky kvasící mladiny se během hlavního kvašení odebírají buď jednorázově, nebo, což je pro sledování průběhu kvasné zkoušky výhodnější, několikrát v předem stanoveném intervalu 1 až 24 hodin.

Dle účelu kvasné zkoušky se hlavní kvašení ukončí po uplynutí 4 až 10 dní od zakvašení mladiny, nebo do dosažení předem stanové hodnoty některého z jejích parametrů, jako například zdánlivého obsahu extraktu, stupně zdánlivého prokvašení nebo obsahu alkoholu v kvasící mladině.

#### 20 Příklady provedení vynálezu

Ve způsobu podle vynálezu se kvasné zkoušky provádějí s mladinou s obsahem extraktu 8 až 20 % hmotnostních, jejíž objem nepřesahuje 5 litrů, která je uložena v otevřené kónické nádobě o objemu o cca 10 až 20 % větším. Podstata vynálezu přitom bude v dalším vysvětlena na způsobu provádění kvasných zkoušek s mladinou o objemu 1 litr.

Připravená mladina o objemu 1 litr se v prvním kroku zakvasí sledovaným produkčním kmenem pivovarských kvasinek. Množství čisté kultury tohoto kmene, které odpovídá požadované výsledné koncentraci, která se obvykle pohybuje v rozmezí  $12 \times 10^6$  až  $20 \times 10^6$  buněk/ml mladiny, se přitom nejprve důkladně rozmíchá v části mladiny o objemu 15 až 25 ml. Po rozmíchání se mladina s kulturou pivovarských kvasinek přidá ke zbývajícimu objemu mladiny a celý objem mladiny se promíchá. K tomu lze s výhodou použít laboratorní třepačku, přičemž promíchávání probíhá obvykle po dobu 15 minut. Poté se stanoví skutečně dosažená koncentrace kvasinek v zakvašené mladině, která se v případě potřeby dále upraví na požadovanou hodnotu přidáním nezakvašené mladiny, nebo dalších kvasinek stejného produkčního kmene. Pokud je to nutné, opakují se tyto kroky až do dosažení požadované koncentrace. Sledování koncentrace kvasinek v mladině se přitom s výhodou provádí mikroskopicky v Bürkerově počítací komůrce, případně jiným vhodným způsobem. Po dosažení požadované koncentrace se z celkového množství zakvašené mladiny odlije 1 litr do otevřeného skleněného kónického válce bez zábrusové hlavy, který je ve své spodní části opatřen kalibrovanou odměrnou trubičkou. V některých případech je přitom výhodnější použít dva takové kónické válce, z nichž se do každého odlije 1 litr zakvašené mladiny připravené stejným způsobem. Použitý kónický válec má s výhodou průměr dna 50 mm, výšku 740 mm a vnitřní úhel zešíkmení 45 až 55°. Kalibrovaná trubička má přitom průměr 13 mm a délku 130 mm. Pro menší objem mladiny, například 0,5 litru, je výhodné použít kónický válec s průměrem dna 40 mm, výškou 615 mm a vnitřním úhlem zešíkmení 30 až 40°, jehož kalibrovaná trubička má průměr 15 mm a délku 140 mm.

V druhém kroku se tento otevřený kónický válec se zakvašenou mladinou umístí do prostředí s řízenou teplotou, například chladicího boxu, ve kterém je nastavena požadovaná teplota, při které probíhá tzv. hlavní kvašení. Tato teplota se přitom obvykle pohybuje v intervalu 9 až 16 °C, čímž simuluje běžné podmínky kvašení při výrobě mladého piva. Dle potřeby lze nastavit v podstatě libovolnou vyšší nebo nižší teplotu. Během hlavního kvašení se v pravidelných předem určených časových intervalech, obvykle 1, 4, 6, 12, 24 hodin, nebo jejich násobcích, odebírají vzorky kvasící mladiny, ve kterých se sleduje její hlavní parametry, jako je zejména obsah extraktu, obsah alkoholu a počet kvasinek ve vznosu a/nebo dle volby a zaměření kvasné

zkoušky jiné parametry. Odběr těchto vzorků se provádí sterilní pipetou ze střední části kónického válce. Nejprve se přitom odebere vzorek o objemu 5 až 10 ml, z něhož se dále odpipetuje 1 až 2 ml do zkumavky pro počítání kvasinek, kde se sleduje tzv. růstová křivka, která udává rychlost a míru pomnožení kvasinek. Zbytek vzorku se krátce, obvykle manuálně vytřepe, čímž se zbaví  $\text{CO}_2$ , a poté se přefiltruje přes laboratorní filtr, s výhodou skládaný papírový filtr s hustotou 80g/mm<sup>2</sup>. U vytvořeného filtrátu se následně na přenosném refraktometru měří s korekcí na teplotu změna refrakce vzorku bez jeho předcházející temperace, z jejíž hodnoty a z hodnoty původního známého obsahu extraktu v mladíně se pomocí tzv. regresních rovnic vypracovaných pro použitý refraktometr vypočítají některé aktuální parametry kvasící mladiny, jako například zdánlivý obsah extraktu, stupeň zdánlivého prokvašení, obsah alkoholu. Současně je přitom v kalibrované trubičce kónického válce odečtena hodnota sedimentace kvasinek, čímž se ověří, zda nedochází k předčasné sedimentaci kvasinek na začátku kvašení, a následně, zda je v dalším průběhu kvašení sedimentace dostatečná. Dle aktuálních hodnot těchto parametrů, případně jich průběhu v čase, je možné začít sledovat dle potřeby další parametr/parametry kvasící mladiny a/nebo vytvořeného mladého piva. Obvykle je například po dosažení 50% stupně zdánlivého prokvašení sledovat u mladého piva odbourávání diacetylu, neboť ten významně ovlivňuje jeho chuť a vůni.

Po ukončení kvasné zkoušky, ke kterému dochází dle volby buď po uplynutí předem stanovené doby (obvykle 4 až 10 dní, nejčistěji 5 až 7 dní), nebo po dosažení předem zvolené hodnoty některého ze sledovaných parametrů, případně poměru mezi dvěma parametry, se u vytvořeného mladého piva opět zjišťují aktuální hodnoty parametrů sledovaných již během kvasné zkoušky, a určují se základní charakteristiky kvašení, dle potřeby například růstová křivka, rychlost zkvašování extraktu, stupeň prokvašení, tvorba etanolu, přítomnost vitamínů skupiny B, apod. Tyto charakteristiky se přitom s výhodou převádí do grafické podoby. Kromě toho se mohou provádět také podobnější analýzy širokého spektra látek, které ovlivňují organoleptický charakter piva, např. obsah vicinálních diketonů,  $\text{SO}_2$  těkavých látek, dusíku, obsah hořkých látek, obsah redukcí cukrů, atd. Tyto analýzy probíhají stejným způsobem používaným dosud u kvasných zkoušek s velkými objemy mladiny.

Postup prováděných kvasných zkoušek podle vynálezu lze použít například pro testování použitelnosti některých produkčních kmenů pivovarských kvasinek v reálném provozu, kontrolu kvality mladiny a její způsobilost pro kvasný proces, sledování průběhu hlavního kvašení při různých podmínkách a vlivech, ověřování stability technologických vlastností produkčních kmenů pivovarských kvasinek uložených určitou dobu ve sbírce nebo opakovaně používaných, sledování chování produkčních kmenů pivovarských kvasinek při kvašení vysokokoncentrovaných mladín a posouzení jeho vhodnosti například pro technologii High Gravity Brewing (HGB), vzájemné srovnání použitelnosti/vhodnosti několika produkčních kmenů pivovarských kvasinek v reálném provozu a za daných podmínek, atd.

Využití přenosného refraktometru a určování charakteristik kvasící mladiny pomocí regresních rovnic umožňuje provádět kvasné zkoušky na objemu mladiny v řádech litrů. Pro získání vhodných informací přitom postačuje i jen 1 litr, případně i 0,5 litru mladiny. Výhodou je, že tento malý objem mladiny je relativně snadno možné udržet homogenní, a lze ho umístit do prostředí s řízenými podmínkami, čímž lze modelovat situace, které nebyly při stávajícím používání velkých objemů mladiny v uzavřených nádržích možné. Vzhledem k tomu, že odebírané vzorky mají objem 5 až 10 ml, nezasahuje jejich odběr do kvasného procesu a nezkresluje výsledky.

V následujících reálných příkladech bude popsáno použití způsobu provádění kvasných zkoušek podle vynálezu pro ověření stability technologických vlastností produkčního kmene pivovarských kvasinek uloženého při sbírce, sledování chování produkčního kmene pivovarských kvasinek při kvašení vysokokoncentrovaných mladín a posouzení jeho vhodnosti pro technologii HGB, a srovnání použitelnosti/vhodnosti několika produkčních kmenů pivovarských kvasinek pro reálný provoz.

## Příklad 1

Způsob provádění kvasných zkoušek podle vynálezu je možné použít pro průběžné sledování a ověřování stability technologických a/nebo fyziologických a/nebo morfologických vlastností produkčního kmene pivovarských kvasinek při jeho dlouhodobém uložení ve sbírce nebo opakovaném používání. Toto sledování přitom s výhodou probíhá opakovaně 1 až 2 krát do roka, vždy za stejných podmínek a při použití stejné mladiny ze stejného zdroje.

V konkrétním příkladu se mladina s obsahem extraktu 2 % hmotnostních zakvasí sledovaným produkčním kmenem pivovarských kvasinek s koncentrací  $15 \times 10^6$  buněk/l ml a umístí do dvou otevřených kónických válců, do každého z nich 1 litr. Teplota kvašení je udržována na hodnotě 10 až 11 °C. Před zakvašením mladiny je standardním způsobem proveden její základní rozbor, tj. je zjištěn přesný obsah extraktu, dosažitelný stupeň prokvašení, pH, celkový obsah dusíku, popřípadě další parametry.

V průběhu kvasné zkoušky jsou po 24 hodinách odebírány vzorky kvasící mladiny o objemu 5 až 10 ml, ve kterých je počítáno množství kvasinek ve vznosu a pomocí přenosného refraktometru a regresních rovnic sledován stupeň prokvašení a tvorba alkoholu. Po dosažení 50 % stupně zdánlivého prokvašení je každých následujících 24 h odebráno 100 ml vzorku pro stanovení hladiny vicinálních diketonů, přičemž jsou dále sledovány i výše uvedené parametry. Kvašení je ukončeno po dosažení 4 % objemových alkoholu. Poté je odečten sediment kvasinek a odebrány vzorky na stanovení zdánlivého extraktu, zdánlivého stupně prokvašení, alkoholu, pH,  $\text{SO}_2$ , vicinálních diketonů a těkavých látek. Výsledky jsou tabulkově a/nebo graficky zpracovány a porovnávány s výsledky předchozích zkoušek z čehož lze zjistit případnou změnu technologických a/nebo fyziologických a/nebo morfologických vlastností daného produkčního kmene pivovarských kvasinek v čase nebo jeho opakovaným používáním. Výsledky získané z kvasné zkoušky v obou kónických válcích se dle potřeby buď zprůměrují, nebo se uvádí jako dvě hodnoty, resp. sady hodnot, případně se uvádí jen jedna vybraná hodnota, resp. sada hodnot.

Tuto zkoušku je možné provádět i ve sterilním prostředí, což však vyžaduje předcházející sterilizace kónických válců i mladiny před jejich zakvašením sledovaným produkčním kmenem pivovarských kvasinek. Sterilizace kónických válců přitom probíhá v horkovzdušném sterilizátoru po dobu 2 hodin při teplotě 180 °C; sterilizace mladiny opakovaně (obvykle třikrát) v proudící páře o teplotě 100 °C po dobu 30 minut.

## Příklad 2

Způsob provádění kvasných zkoušek podle vynálezu je možné použít také pro posouzení vhodnosti testovaného produkčního kmene pivovarských kvasinek pro technologii HGB. Tato technologie přitom spočívá ve zkvašování vysokokoncentrovaných mladín (obvykle s obsahem extraktu 14 až 20 % hmotnostních, případně i více), přičemž získané pivo se následně ředí na požadovaný obsah extraktu (stupňovitost) odplyněnou vodou (např. obsah extraktu 10 % hmotnostních). Vzhledem k vyšší produkci etanolu a vyššímu osmotickému tlaku avšak nejsou tyto vysokokoncentrované mladiny ideálním prostředím pro běžně používané produkční kmeny pivovarských kvasinek, takže výběr vhodných kmenů je pro tuto technologii naprosto nezbytný.

Testovací mladina je připravena ze sušené mladiny s obsahem extraktu 12, 16 a 20 % hmotnostních. Kvasná zkouška přitom probíhá paralelně ve dvou otevřených kónických válcích a její podmínky jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1

Varianta	Původní koncentrace extraktu (% hmotnostní)	Zákvasná dávka ( $10^6$ buněk/ ml mladiny)	Teplota (°C)
A	12	15	12
B	16	18	12
C	16	18	16
D	20	20	12
E	20	20	16

5 Ve všech pěti variantách je mladina zakvašena stejným produkčním kmenem pivovarských kvasinek. Varianta A přitom slouží jako srovnávací, neboť její podmínky jsou běžné v pivovarském provozu při výrobě světlého dvanáctistupňového piva. Varianta B až E umožňují sledování chování testovaného kmene při technologii HGB, tj. při vyšším osmotickém tlaku, který je způsoben vyšším obsahem extraktu v mladině, takže umožňují stanovit použitelnost tohoto kmene pro technologii HGB. Optimální teplota kvašení při technologii HGB je přitom 12 °C (varianta B a D), ale pro zkrácení doby prokvašení mladiny se obvykle zvyšuje na 16 °C (varianta C a E).

15 Ze všech variant se po 24 hodinách odebírá 5 až 10 ml kvasící mladiny, u níž se počítá počet kvasinek ve vznosu a refraktometricky se sleduje stupeň prokvašení a tvorba alkoholu. Kvašení je ukončeno po 6 dnech, přičemž u všech variant je dále odečten sediment kvasinek zachycený v kalibrované trubičce, a odebrány vzorky na stanovení zdánlivého obsahu extraktu, zdánlivého stupně prokvašení, obsahu alkoholu, pH. Z těchto parametrů se dále určuje, zda je daný kmen vhodný pro použití pro technologii HGB či nikoliv. U kmenů vyhodnocených jako potenciálně vhodné se jejich skutečná vhodnost následně testuje v čtvrtprovozu nebo poloprovozu.

### Příklad 3

25 Kromě výše uvedených příkladů je možné použít způsob provádění kvasných zkoušek podle vynálezu také pro srovnání technologických vlastností dvou nebo i více produkčních kmenů pivovarských kvasinek za stejných podmínek, například při použití světlé mladiny s původním obsahem extraktu 10 až 12 % hmotnostních. Zákvasná dávka kvasinek je přitom v intervalu  $14,5 \times 10^6$  až  $15,5 \times 10^6$ /ml mladiny a teplota vedení kvašení je 10 až 12 °C. Kvasná zkouška je ukončena po 6 dnech, přičemž v tomto případě není sledován průběh kvašení, ale po jeho ukončení jsou stanoveny základní parametry mladého piva, případně je provedena podobnější analýza. Z tohoto srovnání lze z testované skupiny kmenů pivovarských kvasinek stanovit nejvhodnější kmen pro dané podmínky kvašení.

## PATENTOVÉ NÁROKY

- 5 1. Způsob provádění kvasných zkoušek, u kterého se mladina zakvasí zvoleným produkčním kmenem pivovarských kvasinek o koncentraci  $10 \times 10^6$  až  $22 \times 10^6$  buněk/ml mladiny, **v y z n a -**  
**č u j í c í s e t í m**, že zakvašená mladina o objemu do 5 litrů se umístí do otevřeného kónic-  
 kého válce, který se následně uloží do prostředí s řízenou teplotou, ve kterém dochází k hlavnímu  
 kvašení mladiny, které se následně po předem stanovené době a/nebo po dosažení předem  
 10 stanovené hodnoty některého z parametrů kvasící mladiny ukončí, přičemž se alespoň jednou  
 sledují parametry kvasící mladiny ze skupiny zdánlivý obsah extraktu, stupeň zdánlivého prokva-  
 šení, obsah alkoholu, růstová křivka kvasinek, sedimentace kvasinek a/nebo parametry mladého  
 piva ze skupiny obsah extraktu, rychlost zkvašování extraktu, stupeň zdánlivého prokvašení  
 obsah alkoholu, obsah vicinálních diketonů, obsah  $\text{SO}_2$ , obsah těkavých látek, obsah dusíku,  
 15 obsah hořkých látek, obsah redukujících cukrů, přítomnost vitamínů skupiny B.
2. Způsob podle nároku 1, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že do otevřeného kónického válce  
 se umístí 1 litr zakvašené mladiny.
- 20 3. Způsob podle nároku 1 nebo 2, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že teplota prostředí s říze-  
 nou teplotou je 9 až 16 °C.
4. Způsob podle libovolného z předcházejících nároků, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že  
 během hlavního kvašení se z kvasící mladiny alespoň jednou odebere vzorek o objemu 5 až  
 25 10 ml, u kterého se na přenosném refraktometru s korekcí na teplotu vzorku stanoví změna  
 refrakce mladiny, přičemž z této hodnoty a z hodnoty původního obsahu extraktu v mladině se  
 prostřednictvím regresní rovnice sestavené pro použitý refraktometr vypočte zdánlivý obsah  
 extraktu v mladině a/nebo stupeň zdánlivého prokvašení mladiny a/nebo obsah alkoholu v mla-  
 30 dině.
5. Způsob podle nároku 4, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že během hlavního kvašení se  
 z kvasící mladiny odebírají vzorky v předem stanoveném intervalu 1 až 24 hodin.
- 35 6. Způsob podle libovolného z nároků 1 až 5, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že hlavní kva-  
 šení se ukončí po uplynutí 4 až 10 dní od zakvašení mladiny.
7. Způsob podle libovolného z nároků 1 až 5, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že hlavní kva-  
 šení se ukončí do dosažení předem stanovené hodnoty zdánlivého obsahu extraktu v kvasící mla-  
 40 dině.
8. Způsob podle libovolného z nároků 1 až 5, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že hlavní kva-  
 šení se ukončí do dosažení předem stanovené hodnoty stupně zdánlivého prokvašení kvasící mla-  
 diny.
- 45 9. Způsob podle libovolného z nároků 1 až 5, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že hlavní kva-  
 šení se ukončí do dosažení předem stanovené hodnoty obsahu alkoholu v kvasící mladině.

---

 Konec dokumentu
 

---