



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **119747** (13) **C2**  
(51) МПК (2019.01)

**A01N 59/00**

**A01N 49/00**

**A01N 65/00**

**A01N 37/36** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>а 2015 09822</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Чепмен Джон С. (US),</b> <b>Консало Корінн Е. (US)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>14.03.2014</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>СОЛЕНІС ТЕХНОЛОДЖИС КАЙМАН, Л.П.,</b> Rheinweg 11, CH-8200 Schaffhausen, Switzerland (CH)
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>12.08.2019</b>	<b>(74)</b> Представник: <b>Петров Андрій Володимирович, реєстр. №139</b>
<b>(31)</b> Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>61/791,168</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO2011088334, A1, 21.07.2011 WO0106877, A1, 01.02.2001 KIM H ET AL, "Production and stability of chlorine dioxide in organic acid solutions as affected by pH, type of acid, and concentration of sodium chlorite, and its effectiveness in inactivating Bacillus cereus spores", FOOD MICROBIOLOGY, ACADEMIC PRESS LTD, LONDON, GB, vol. 25, no. 8, doi:10.1016/J.FM.2008.05.008, ISSN 0740-0020, (20081201), pages 964 - 969, (20080528), XP025571980 [Y] 1-20 * tables 1,2 * * page 966, column 2 *
<b>(32)</b> Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>15.03.2013</b>	
<b>(33)</b> Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: <b>US</b>	
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку: <b>10.12.2015, Бюл.№ 23</b>	
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>12.08.2019, Бюл.№ 15</b>	
<b>(86)</b> Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: <b>PCT/US2014/027614, 14.03.2014</b>	

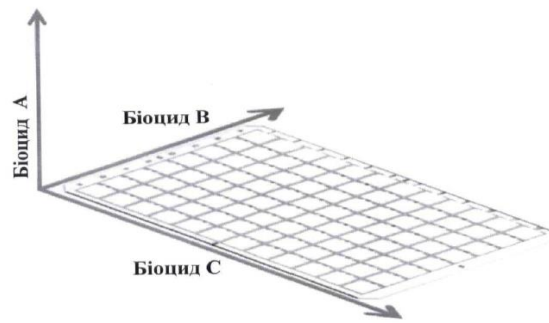
**(54) СИНЕРГЕТИЧНІ СУМІШІ АНТИМІКРОБНИХ ЗАСОБІВ, КОРИСНІ ДЛЯ КОНТРОЛЮ МІКРООРГАНІЗМІВ У ПРОМИСЛОВИХ ПРОЦЕСАХ**

**(57) Реферат:**

Даний винахід забезпечує спосіб контролю бактеріальної контамінації при використанні синергетичних взаємодій антимікробних препаратів. Винахід складається з комбінацій двоокису хлору та органічних кислот, поєднаний антимікробний ефект яких є більшим за суму їх індивідуальних активностей, тобто є синергетичним.

UA 119747 C2

ФІГ. 1.



## ГАЛУЗЬ ВИНАХОДУ

Даний винахід відноситься до синергетичних комбінацій антимікробних засобів та способів їх застосування для контролю мікроорганізмів у промислових процесах, матеріалах або продуктах, де їх присутність вважається небажаною.

## 5 ПЕРЕДУМОВИ СТВОРЕННЯ ВИНАХОДУ

Є відомим, що присутність мікроорганізмів у промислових водних системах може являти собою значну проблему у промислових процесах, спричиняючи при цьому проблеми, пов'язані із зниженням виходу продукту, якості продукту та ефективності процесу.

10 Фізична присутність мікроорганізмів може викликати такі проблеми, як їх ріст у біоплівках на поверхні теплообмінників, де вони спричиняють зниження ефективності передачі тепла. Здатність мікроорганізмів споживати широку різноманітність матеріалів може спричинити зниження виходу продукції, наприклад, у тих випадках, коли мікроорганізми споживають целюлозу, це викликає втрати у паперовій промисловості. Крім того, утворення продуктів метаболізму забруднюючими мікроорганізмами може спричинити такі проблеми, як утворення 15 ними кислотних продуктів, що можуть викликати проблеми щодо якості продукту або спричинити проблеми з корозією.

Проте у деяких галузях промисловості мікроорганізми використовуються для одержання ряду продуктів ферментації таких, як етанол промислової марки, дистильовані спирти, пиво, вино, фармацевтичні препарати та нутрицевтики (харчові продукти, які забезпечують переваги 20 для здоров'я, такі, як вітамінізовані продукти харчування та біологічно активні добавки), у хлібобулочній галузі та у виробництві хімічних препаратів. У деяких випадках є бажаним пригнічувати ріст небажаних мікроорганізмів та сприяти росту бажаних. У цьому контексті небажані мікроорганізми є такими, що конкурують за субстрат з бажаними мікроорганізмами або продукують метаболічні продукти, які перешкоджають росту бажаних мікроорганізмів, що 25 виробляють бажаний кінцевий продукт.

Дріжджі являють собою мікроорганізми, що часто використовуються у ферментаційних процесах. Один з типових видів дріжджів являє собою *Saccharomyces cerevisiae*, вид, який головним чином використовується у хлібобулочній промисловості та у ферментації. Дріжджі, 30 відмінні від *Saccharomyces*, що також є відомими як нетрадиційні дріжджі, також використовуються для створення ряду комерційних продуктів.

Інші мікроорганізми також можуть бути корисними в одержанні ферментаційних продуктів. Наприклад, при одержанні етанолу з целюлози, одержанні етанолу з целюлозної біомаси, використовують гриби та бактерії. Приклади таких целюлолітичних грибів включають 35 *Trichoderma reesei* та *Trichoderma viride*. Один з прикладів бактерій, які використовуються при одержанні етанолу з целюлози, являє собою *Clostridium ljungdahlii*.

Більшість грибів, що використовуються на спиртогорілчаних заводах та на фабриках з виробництва паливного етанолу, закуповуються від виробників спеціальних грибів. Гриби одержують при використанні процесу розмноження. Розмноження передбачає вирощування 40 великої кількості грибів з невеликої лабораторної культури гриба. Під час розмноження гриби забезпечуються киснем, азотом, цукрами, білками, ліпідами та іонами, які є необхідними або бажаними для оптимального росту шляхом аеробного дихання.

Після використання на спиртогорілчаному виробництві дріжджі можуть пройти кондиціонування. Кондиціонування, на відміну від розмноження, полягає у тому, що воно не передбачає вирощування великої кількості з невеликої лабораторної культури. Під час 45 кондиціонування створюються умови для повторної регідратації дріжджів, виведення із періоду спокою та забезпечення максимального анаеробного відтворення та розмноження. Метою як розмноження, так і кондиціонування, є доставка великого об'єму дріжджів до ферментаційного резервуару з високою життєздатністю, високою здатністю до брунькування та низьким рівнем інфекції іншими мікроорганізмами.

50 Після розмноження та/або кондиціонування дріжджі поступають у процес процес ферментації. Дріжджі поєднуються у водному розчині зі здатними до бродіння цукрами. Дріжджі споживають цукри, перетворюючи їх на аліфатичні спирти такі як, етанол.

Процес ферментації починається з отримання здатних до бродіння вуглеводів. У виробництві етанолу кукурудза являє собою одне з можливих джерел, що є здатним до 55 ферментації вуглеводів. Інші джерела вуглеводів, у тому числі зернові культури та матеріали, що містять целюлозу та крохмаль, такі як, пшениця або сорго, також можуть замінювати вказані вище джерела ферментації. Целюлозна біомаса така, як солома та стебла кукурудзи, також може використовуватися у цьому процесі. Одержанню етанолу з целюлози зараз приділяється велика увага, оскільки воно використовує легко доступну непродовольчу біомасу для отримання 60 цінного палива.

Процеси розмноження, кондиціонування та ферментації можуть здійснюватися з використанням періодичного або безперервного способів. Періодичний процес використовується для дрібносерійного виробництва. Кожна партія завершується перед початком нової. Безперервний спосіб ферментації використовується для великомасштабного

5 виробництва, оскільки він забезпечує безперервну подачу без повторного запуску кожного разу. Під час процесу розмноження, кондиціонування або ферментації сусло або ферментаційна суміш можуть стати забрудненими іншими мікроорганізмами такими, бактерії, що викликають псування. Ці мікроорганізми конкурують з бажаними видами дріжджів за ферментацію цукрів і сповільнюють бажану біохімічну реакцію, що призводить до зниження виходу продукту. Вони

10 також можуть виробляти небажані побічні хімічні продукти, які можуть викликати псування цілих партій ферментації.

Виробники етанолу зробили спробу збільшити кількість етанолу, отриманого з одного бушеля зернових культур (приблизно 56 фунтів (25,4 кілограма)). Забруднення бактеріями знижує ефективність дріжджів, що ускладнює можливість досягнення або перевищення бажаних

15 рівнів 2,8-2,9 галонів етанолу на бушель (,42-,44 літри на кілограм). Зниження концентрації бактерій буде сприяти розмноженню дріжджів та/або кондиціонуванню та підвищенню ефективності дріжджів, що зробить можливим досягнення та перевищення цих бажаних рівнів.

Під час одного з цих трьох процесів дріжджі можуть бути забруднені небажаними дріжджами, бактеріями або іншими небажаними мікроорганізмами. Це може статися в одному з багатьох резервуарів, які використовуються у розмноженні, кондиціонуванні або ферментації. Такі включають, але без обмеження, резервуар для розмноження, резервуар для кондиціонування, стартові резервуари, чани для ферментації та систему трубопроводів та теплообмінників між цими одиницями.

Бактеріальна контамінація знижує вихід продукту ферментації у трьох основних напрямках. По-перше, цукри, які можуть бути доступними для дріжджів при виробництві спирту, споживаються бактеріями і перенаправляються у напрямку від продукції спирту, знижуючи вихід продукції. По-друге, кінцеві продукти метаболізму бактерій такі, як молочна кислота та оцтова кислота, пригнічують ріст дріжджів та дріжджове бродіння/дихання, що призводить до менш ефективного виробництва дріжджів. І на завершення, бактерії конкурують з дріжджами за

30 поживні речовини, відмінні від цукру.

Після того як система ферментації або резервуар будуть забруднені бактеріями, ці бактерії можуть рости набагато швидше, ніж бажані дріжджі. Бактерії конкурують з дріжджами за ферментацію цукрів і сповільнюють бажану біохімічну реакцію, що призводить до зниження виходу продукту. Бактерії також виробляють небажані хімічні побічні продукти, які можуть викликати псування цілих партій ферментації. Видалення цих бактерій дозволяє бажаним дріжджам розвиватися, що приводить до більш високої ефективності виробництва.

Навіть один відсоток зменшення виходу етанолу є досить істотним для промисловості паливного етанолу. На великих об'єктах таке зниження ефективності буде знижувати дохід від 1 мільйона до 3 мільйонів доларів на рік.

Деякі способи зниження вмісту бактерії при розмноженні, кондиціонуванні та ферментації використовують толерантність дріжджів до застосування більш високої температури і рН у порівнянні з іншими мікроорганізмами. Це здійснюють шляхом застосування підвищеної температури або зниження значення рН розчину дріжджів. Проте ці процеси не є достатньо ефективними щодо уповільнення бактеріального росту. Крім того, бажані дріжджі при виживанні піддаються стресу та не є ефективними та здоровим, а також не можуть здійснювати свою функцію.

Переважним напрямком у промисловості виробництва етанолу є зниження значення рН суслу (затору) (вихідної сировини) до меншого за 4,5 на початку ферментації. Зниження рН суслу зменшує чисельність популяції деяких видів бактерій. Проте це є набагато менш ефективним у зменшенні чисельності проблемних бактерій таких, як бактерії, що продукують молочну кислоту, або бактерії, які виробляють оцтову кислоту. Це також значно зменшує вихід етанолу, оскільки дріжджі, що використовуються для виробництва етанолу, піддаються стресу.

Інший підхід включає промивання дріжджів фосфорною кислотою. Цей спосіб не є ефективним щодо знищення кількості бактерій. Він може також піддавати стресу дріжджі, які використовуються для виробництва етанолу, знижуючи тим самим їх ефективність.

55 Ще один спосіб полягає у використанні тепла або агресивних хімічних речовин для стерилізації технологічного обладнання між партіями. Він не є ефективним щодо знищення бактерій у суміші дріжджів під час виробництва.

Інший підхід включає застосування двоокису хлору, оксидативного антимікробного засобу, як правило, до сировини або рециркуляційних вод, що використовуються у процесі ферментації.

Двоокис хлору часто виробляється *in situ*. Дуже часто високі рівні двоокису хлору використовуються для подолання негативних ефектів високих органічних навантажень, що типово спостерігаються при використанні окислювальних препаратів. Двоокис хлору може застосовуватися в декількох сайтах у процесі, але високих рівнів в ферментаційному резервуарі слід уникати, оскільки його високі рівні можуть також інгібувати дріжджі. Великі об'єми систем, які піддаються обробці, та обмежені можливості сучасних систем, які генерують двоокис хлору, часто обмежують ферментаційні системи, які можна обробляти у відповідності із цим підходом, або вимагають розгортання декількох генераторів.

Ще в одному способі до системи розмноження дріжджів, кондиціонування або ферментації додають антибіотики, щоб нейтралізувати бактерії. Ферментаційні галузі промисловості, як правило, застосовують антибіотики при процесах кондиціонування, розмноження та ферментації. Рівень доз антибіотиків коливається від 0,1 до 3,0 мг/л і зазвичай не перевищує 6 мг/л. Проте існують проблеми із використанням антибіотиків при кондиціонуванні, розмноженні та ферментації. Антибіотики є дорогими і можуть істотно підвищувати вартість виробництва у великих масштабах. Крім того, антибіотики не є ефективними відносно усіх штамів бактерій таких, як стійкі до антибіотиків штами бактерій. Надмірне використання антибіотиків може також призвести до створення додаткових стійких до антибіотиків штамів бактерій.

У даний час у США майже всі заводи з біологічної переробки використовують протимікробний засіб, і багато з них використовують такий антибіотик, як віргініаміцин. Важливим продуктом рослин кукурудзи, які піддають переробці, є висушена барда, що використовується як корм для тварин, і ринок вільного від антибіотиків фуражного зерна зростає. Висушена барда являє собою сухий залишок після ферментації зерна. Залишки антибіотиків і утворення штамів, стійких до антибіотиків, є глобальною проблемою. Ці проблеми можуть привести в майбутньому до нормативних дій, спрямованих проти використання антибіотиків. Очікується, що Управління з контролю за продуктами харчування та лікарськими засобами США (FDA) скоро створить правила скорочення або усунення застосування антибіотиків в кормах для тварин. Канада має аналогічні побоювання щодо антибіотиків у барді та більшість їх продукції йде на експорт. Європа вже заборонила використання антибіотиків на рослинах, які використовуються для одержання етанолу, де спиртова барда виробляється для тваринних кормів. У Бразилії використання вільних від антибіотиків рослин на підприємствах, що виробляють дріжджовий екстракт для експорту, є обов'язковим. Продаж зернової барди складає аж до 20 % доходу підприємства, що виробляє етанол. Концентрація антибіотиків у побічному продукті може коливатися від 1 до 3 % за вагою, що таким чином зводить нанівець це важливе джерело доходу.

Крім того, є й інші питання, які слід враховувати при використанні антибіотиків. Суміші антибіотиків мають бути збалансованими і часто змінюватися, щоб уникнути використання одного антибіотика, що призведе до утворення штамів, стійких до антибіотиків. Іноді ефективна кількість антибіотика не може додаватися до ферментаційної суміші. Наприклад, використання більше 2 мг/л віргініаміцину буде інгібувати ферментацію, проте більше 25 мг/л потрібно для того, щоб інгібувати ріст *Weisella confusa*, проблемного штаму бактерій, що формується. Передозування або зловживання антибіотиками може піддавати стресу дріжджі та справляти негативний вплив на їх ефективність або спричинювати невідповідність нормативним вимогам.

Галузі, які використовують ферментацію для одержання напоїв, історично застосовується кислоти хмелю при розмноженні та ферментації для контролю небажаних мікроорганізмів, які конкурують з дріжджами за поживні речовини. У зв'язку з розширенням паливного етанолу кислоти хмелю використовуються в незначній мірі для вирішення проблеми небажаних грампозитивних мікроорганізмів. Конкуренція між дріжджами та небажаними мікроорганізмами призводить до втрати виходу паливного етанолу, оскільки небажані мікроорганізми, в першу чергу, *Lactobacillus* та *Acetobacter*, знижують ефективність ферментації. У напоях забруднюючі мікроорганізми не тільки знижують ефективність, але також змінюють естетику та смак кінцевого продукту.

Органічні кислоти мають багато застосувань, у тому числі використовуються як підкислювальні агенти, буфери, антиоксиданти, хелатувальні агенти, синергісти, дієтичні добавки, ароматизатори, консерванти та протимікробні препарати. Механізм дії органічної кислоти полягає у тому, що недисоційовані кислоти проникають у клітинну стінку бактерій за допомогою пасивної дифузії та порушують нормальну фізіологію клітини двома способами: Кислоти піддаються дисоціації і тому знижують внутрішнє значення рН, яке зазвичай є близьким до нейтрального, порушуючи, таким чином, функцію бактерій. Аніонна частина кислоти, яка не може залишити клітину у своїй дисоційованій формі, накопичується всередині, порушуючи метаболічні функції та підвищуючи осмотичний тиск. Недоліком використання органічних кислот

є відносно високі рівні та об'єми, що є необхідними тоді, коли вони використовуються як такі.

Оскільки невелике зниження виходу етанолу є дуже істотним для галузі виробництва паливного етанолу, виробники етанолу постійно шукають способи підвищення ефективності. Контроль мікроорганізмів є дуже важливим для багатьох інших галузей промисловості, а також переважною стратегією є обробка при використанні протимікробних препаратів. Протимікробні засоби використовуються для усунення, зменшення або іншого контролю кількості мікроорганізмів у водних системах. Проте використання більшості антимікробних препаратів буде підвищувати вартість операцій і продуктів, а, отже, необхідно шукати більш ефективні шляхи досягнення контролю мікроорганізмів. Крім того, багато протимікробних препаратів мають недоліки або у своєму спектрі антимікробної активності, або в експлуатаційних обмеженнях способу їх застосування такі, як відсутність температурної стабільності або чутливості до інактивації факторами навколишнього середовища або хімічними факторами. Крім того, у випадку, процесів з використанням двоокису хлору або іншого протимікробного препарату, який виробляється *in situ*, обмеження стосовно об'єму протимікробного агенту, що є здатним вироблятися, можуть бути значними.

Таким чином, можуть використовуватися комбінації антимікробних агентів та, зокрема, є бажаними синергетичні комбінації антимікробних засобів. Синергетичні комбінації антимікробних засобів можуть забезпечити протимікробний ефект, який є вищим, ніж сума ефектів окремих протимікробних препаратів і, таким чином, може забезпечити поліпшені характеристики щодо витрат у порівнянні з комбінаціями, які є просто адитивними за своєю протимікробною ефективністю. Крім того, синергетичні суміші антимікробних препаратів, в яких один являє собою антимікробний агент, що генерується *in situ*, можуть зменшити необхідний об'єм антимікробного агенту і, таким чином, збільшити максимальний розмір системи, яка піддається обробці.

#### КОРОТКИЙ ОПИС ФІГУР

ФІГ. 1 являє собою карту планшету з потрійними блоками у шаховому порядку для дослідження синергетичного ефекту, що демонструє приклад концентрацій антимікробних агентів.

ФІГ. 2 являє собою графік, який відображує концентрації бактерій у моменти часу після додання антимікробних агентів та наприкінці ферментації (64 години).

ФІГ. 3 являє собою графік, який відображує середнє значення виходу етанолу для обробок, де значення виражають у грамах етанолу на грами висушеної кукурудзи.

#### ОПИС ВИНАХОДУ

Для цілей даного опису значення "мікроорганізми" та "мікроби" включає, але без обмеження, бактерії, гриби, найпростіші та віруси. Переважні мікроорганізми, проти яких ці композиції є ефективними, являють собою бактерії, і більш бажано молочнокислі бактерії, оцтовокислі бактерії та бактерії, які конкурують за поживні речовини з дріжджами в процесі ферментації. Мікроорганізми можуть бути аеробними, анаеробними або факультативними по відношенню до використання кисню. Слід також розуміти, що мікроорганізми у воді або водних системах можуть знаходитися або бути суспендованими у рідині (наприклад, є планктонними) або можуть розміщуватися на поверхні у контакті з водною системою (наприклад, у біоплівці). Слова та фрази "боротьба", "боротьба з мікроорганізмами", "контроль" і "антимікробна ефективність" слід трактувати широко, щоб включати в їх значення, але без обмеження, інгібування росту мікроорганізмів, знищення мікроорганізмів, дезінфекцію, запобігання розмноженню мікроорганізмів, санітарну обробку або запобігання повторного росту мікроорганізмів.

Як використовується у даній заявці част. на млн. вимірюються як маса на об'єм, або 1 част. на млн. дорівнює 1 мг (активної сполуки) на літр. Дозування визначається як концентрація компонента в системі, яку піддають обробці.

Як використовується в даній заявці, термін "органічна кислота" є також посиланням на її сіль. Для цілей даного винаходу перша органічна кислота є відмінною органічною кислотою від другої органічної кислоти.

Мета даного винаходу полягає в досягненні значного зниження кількості забруднюючих бактерій в промислових процесах, матеріалах або продуктах, де їх присутність вважається небажаною.

Винахід забезпечує синергетичну антимікробну комбінацію, яка включає три частини, та способи застосування синергетичної антимікробної комбінації у боротьбі з мікроорганізмами. Композиція включає двоокис хлору разом з кислотами хмелю та органічними кислотами. Композиція може включати двоокис хлору в поєднанні з першою органічною кислотою та другою органічною кислотою, де перша органічна кислота відрізняється від другої органічної кислоти. Переважні органічні кислоти включають лимонну кислоту, пропіонову кислоту та бензойну

кислоту або їх солі. Бажаною першою органічною кислотою є лимонна кислота. Вказані кислоти відносяться до кислот як таких або до їх солей.

Було виявлено, що ці комбінації є синергетичними у воді або водних системах, коли використовуються для боротьби з мікроорганізмами, а також є ефективними в матриксах, таких як ті, що виявлені при біологічній переробці, коли тверді частинки кукурудзи можуть бути присутніми у значній кількості. Таким чином, комбіновані протимікробні матеріали приводять до поліпшення антимікробної ефективності додатково до тієї, яку можна було б очікувати на основі суми їх індивідуальних антибактеріальних ефективностей. Цей несподівано виявлений синергізм дозволяє зменшувати кількості протимікробних препаратів, які будуть використовуватися для досягнення прийнятного контролю мікроорганізмів у промислових процесах, де присутня вода.

Даний винахід забезпечує синергетичні антимікробні комбінації, що включають двоокис хлору, кислоти хмелю та принаймні одну органічну кислоту, та способи застосування комбінації двоокису хлору, кислот хмелю та принаймні однієї органічної кислоти. Винахід також забезпечує синергетичні антимікробні комбінації, що включають двоокис хлору, принаймні одну першу органічну кислоту і принаймні одну другу органічну кислоту, та способи із застосуванням комбінації двоокису хлору, кислот хмелю та принаймні однієї органічної кислоти або комбінації двоокису хлору, принаймні однієї першої органічної кислоти і принаймні однієї другої органічної кислоти. Бажані органічні кислоти включають лимонну кислоту, пропіонову кислоту та бензойну кислоту або їх солі. Найбільш бажана органічна кислота являє собою лимонну кислоту. Органічні кислоти можуть використовуватися в їх кислотній формі або у формі солі. Ці комбінації є корисними для боротьби з мікроорганізмами у водних системах і продуктах. Даний винахід приводить до значного зменшення кількості забруднюючих бактерій в промислових процесах, матеріалах або продуктах, де їх присутність вважається небажаною.

Було виявлено, що використання комбінації двоокису хлору, екстракту принаймні однієї кислоти хмелю і принаймні однієї органічної кислоти або комбінації двоокису хлору, принаймні однієї першої органічної кислоти і принаймні однієї другої органічної кислоти забезпечує синергетичний контроль мікроорганізмів у водній системі. Таким чином, комбінація компонентів приводить до підвищення антимікробної ефективності додатково до такої, на яку можна було б очікувати на основі суми їх індивідуальних антибактеріальних ефективностей. Цей несподівано виявлений синергізм дозволяє зменшувати кількості протимікробних препаратів, які будуть використовуватися для досягнення прийнятного контролю мікроорганізмів у промислових процесах таких, як біологічна переробка, або матеріалів, де це є бажаним. У тих випадках, коли один протимікробний агент утворюється *in situ*, такий як двоокис хлору, зниження необхідної кількості антимікробного засобу дозволяє використовувати комбінації у системах, вимоги до об'єму яких в іншому випадку були б занадто високими для того, щоб піддаватися обробці тільки двоокисом хлору.

Компоненти композиції могут бути рецептовані у вигляді однієї суміші і додаються до системи, що підлягає обробці. Вони також можуть бути змішані після утворення *in situ* двоокису хлору та додаються до системи, або вони можуть бути додаватися послідовно або у різних місцях у процесі. Кваліфікований спеціаліст в даній галузі техніки може легко визначити відповідний спосіб додання для кожної системи, що підлягає обробці.

Один необмежувальний варіант здійснення даного способу зниження концентрації небажаних мікроорганізмів у водній системі включає:

- (а) введення двоокису хлору у систему, що піддається обробці,
- (б) введення кислот хмелю у систему, що піддається обробці, і
- (в) введення принаймні однієї органічної кислоти у систему, що піддається обробці,

де двоокис хлору знаходиться у концентрації принаймні 1 част. на млн у водній системі, що піддається обробці, а концентрація кислот хмелю складає принаймні 0,5 част. на млн у водній системі, що піддається обробці. Бажані органічні кислоти включають лимонну кислоту, пропіонову кислоту та бензойну кислоту або їх солі, найбільш бажаною є лимонна кислота або її сіль.

Інший необмежувальний варіант здійснення даного способу зниження концентрації небажаних мікроорганізмів у водній системі включає:

- (а) введення двоокису хлору у систему, що піддається обробці,
- (б) введення принаймні однієї першої органічної кислоти у систему, що піддається обробці, і
- (в) введення принаймні однієї другої органічної кислоти у систему, що піддається обробці

де двоокис хлору знаходиться у концентрації принаймні 1 част. на млн у водній системі, що піддається обробці, а загальна концентрація органічних кислот (сума концентрації першої органічної кислоти та другої органічної кислоти), складає 100 част. на млн у водній системі, що

піддається обробці. Бажані органічні кислоти включають лимонну кислоту, пропіонову кислоту та бензойну кислоту або їх солі, найбільш бажаною є лимонна кислота або її сіль.

Двоокис хлору, що використовується, може утворюватися *in situ* за допомогою хімічної трансформації хлориту або хлорату або іншого субстрату, при використанні електрохімічної реакції, або може забезпечуватися у формі стабілізованих композицій двоокису хлору.

Необмежувальні приклади кислот хмелю, які можуть використовуватися у даному винаході, включають сполуки бета-кислот, альфа-кислот, ізомеризованих альфа-кислот,  $\rho$  ізомеризованих альфа-кислот, тетра ізомеризованих альфа-кислот, гекса ізомеризованих альфа-кислот та листя хмелю.

Лимонна кислота є бажаною кислотою, корисною у даному винаході, але можна розумно очікувати, що інші органічні кислоти з аналогічними протимікробними механізмами, також будуть корисними у даному винаході. Солі цих кислот також включаються у винахід. Прийнятні необмежувальні приклади органічних кислот, які використовуються у даному винаході, включають, але не обмежуються такими, як лимонна кислота, бензойна кислота, пропіонова кислота, винна кислота, оцтова кислота, бензолсульфонова кислота, щавлева кислота, яблучна кислота, саліцилова кислота, молочна кислота, глюконова кислота, гліколева кислота та їх солі. Для цілей даного винаходу органічна кислота не є кислотою хмелю. Бажані органічні кислоти включають лимонну кислоту, пропіонову кислоту та бензойну кислоту або їх солі. У системах, що містять принаймні одну першу органічну кислоту та принаймні одну другу органічну кислоту, лимонна кислота являє собою бажану першу органічну кислоту.

Двоокис хлору може використовуватися у кількостях від 1 част. на млн до 100 част. на млн у системі, що піддається обробці. Двоокис хлору може використовуватися у кількості від 1 част. на млн до 75 част. на млн у водній системі, що піддається обробці, або від 1 част. на млн до 50 част. на млн, або від 1 част. на млн до 15 част. на млн, або від 3 част. на млн до 50 част. на млн, або від 3 част. на млн до 15 част. на млн, або від 5 част. на млн до 20 част. на млн, або від 5 част. на млн до 15 част. на млн. У загальному випадку використовується принаймні 1 част. на млн або принаймні 5 част. на млн, або принаймні 7 част. на млн двоокису хлору. Співвідношення двоокису хлору до принаймні однієї органічної кислоти може складати від 1:1 до 1:15000 або від 1:1 до 1:10000, або співвідношення може складати від 1:1 до 1:2000, або співвідношення від 1:1 до 1:1000, або співвідношення від 1:4 до 1:10,000, або співвідношення від 1:4 до 1:2000, або співвідношення від 1:4 до 1:1000, або від 1:20 до 1:100. Співвідношення базується на част. на млн. матеріалу у водній системі, що піддається обробці. У винаході можуть використовуватися дози кислот хмелю, які складають принаймні 0,5 част. на млн та є рівними або меншими за 15 част. на млн, або можуть складати 2 част. на млн та бути рівними або меншими за 15 част. на млн, або принаймні 3 част. на млн та бути рівними або меншими за 10 част. на млн, або принаймні 5 част. на млн та бути рівними або меншими за 15 част. на млн, або можуть складати 5 част. на млн та бути рівними або меншими за 10 част. на млн. Співвідношення двоокису хлору до кислот хмелю може складати від 100:1 до 1:10, або від 100:1 до 1:5, або від 75:1 до 1:5, або від 75:1 до 1:2, або від 5:1 до 1:5, або від 2:1 до 1:2.

В одному з варіантів здійснення винахід включає лимонну кислоту або її сіль як органічну кислоту у поєднанні з двоокисом хлору і кислотою хмелю. Переважно використовують принаймні 1 част. на млн двоокису хлору, принаймні 1 част. на млн кислоти хмелю та принаймні 50 част. на млн або 75 част. на млн або 100 част. на млн лимонної кислоти у системі, що піддається обробці.

В одному з варіантів здійснення винахід включає пропіонову кислоту або її сіль як органічну кислоту у поєднанні з двоокисом хлору і кислотою хмелю. Переважно використовують принаймні 1 част. на млн двоокису хлору, принаймні 1 част. на млн кислоти хмелю та принаймні 50 част. на млн або 75 част. на млн. або 100 част. на млн пропіонової кислоти у системі, що піддається обробці.

В одному з варіантів здійснення винахід включає бензойну кислоту або її сіль як органічну кислоту у поєднанні з двоокисом хлору і кислотою хмелю. Переважно використовують принаймні 1 част. на млн двоокису хлору, принаймні 1 част. на млн кислоти хмелю та принаймні 50 част. на млн або 75 част. на млн або 100 част. на млн бензойної кислоти у системі, що піддається обробці.

У трикомпонентній системі, яка включає двоокис хлору, органічну або дві органічні кислоти, органічні кислоти додають до систем, що піддається обробці, у співвідношенні першої кислоти на другій кислоти від 64:1 аж до 1:32 або у співвідношенні від 32:1 до 1:32, або у співвідношенні від 32:1 до 1:16, або у співвідношенні від 8:1 до 1:32, або у співвідношенні від 8:1 до 1:16, або у співвідношенні від 8:1 до 1:8. Перша кислота може використовуватися у кількості від 12500 част. на млн до 100 част. на млн у системі, що піддається обробці. Перша кислота може

використовуватися у кількості від 6250 до 100 част. на млн у водній системі, що піддається обробці, або від 4000 до 100 част. на млн, або від 4000 до 200 част. на млн. У загальному випадку перша кислота використовується у кількості принаймні 100 част. на млн або принаймні 200 част. на млн, або принаймні 300 част. на млн. Співвідношення першої органічної кислоти до другої органічної кислоти може складати від 64:1 до 1:32 або від 32:1 до 1:32, або від 8:1 до 1:32. Зазвичай загальна сума двох органічних кислот, що використовуються у системі, яка піддається обробці, складає менше за 20000 част. на млн, або менше за 15000 част. на млн, або менше за 11000 част. на млн. Зазвичай загальна сума двох кислот, що використовуються у системі, яка піддається обробці, складає принаймні 50 част. на млн або принаймні 75 част. на млн, або принаймні 100 част. на млн. Двоокис хлору може використовуватися у кількості від 1 част. на млн до 75 част. на млн у водній системі, що піддається обробці, або від 1 част. на млн до 50 част. на млн, або від 1 част. на млн до 15 част. на млн, або від 3 част. на млн до 50 част. на млн, або від 3 част. на млн до 15 част. на млн, або від 3 до 9 част на млн. В загальному випадку принаймні 1 част. на млн або принаймні 3 част. на млн, або принаймні 5 част. на млн, або принаймні 7 част. на млн двоокису хлору використовується у водній системі, що піддається обробці. Співвідношення двоокису хлору до загальної кількості двох органічних кислот може складати від 1:1 до 1:15000 або співвідношення може складати від 1:1 до 1:10000, або співвідношення може складати від 1:1 до 1:2000, або співвідношення може складати від 1:1 до 1:1200, або співвідношення може складати від 1:4 до 1:15000, або співвідношення може складати від 1:4 до 1:10000, або співвідношення може складати від 1:4 до 1:2000, або співвідношення може складати від 1:4 до 1:1000, або співвідношення може складати від 1:20 до 1:100. Перша органічна кислота та друга органічна кислота не є однаковими органічними кислотами, а також їх відповідними солями. Бажана органічна кислота у випадку першої органічної кислоти являє собою лимонну кислоту або її сіль.

Приклади води та водних систем, в яких композиції є корисними, являють собою воду для системи біологічної переробки, системи охолодження води, воду для бойлерів, воду для целюлозно-паперової промисловості, воду для закачування у нафтових і газових родовищах та воду, що видобувається разом з нафтою, воду для систем нафто- і газопроводів та систем зберігання, воду для паливних теплообмінників, водний баласт, стічні води, воду для пастеризаторів, інші види промислової технічної води, мастильно-охолоджувальні рідини, воду для процесів виробництва латексу, полімерів, фарб, покриттів, клеїв, чорнил, засобів особистої гігієни та господарчих товарів, воду для систем зворотного осмосу, електрохімічних систем осадження, рідин, що використовуються у видобутку корисних копалин, для процесів обробки мінеральних шламів, переробки сільськогосподарської продукції, воду для біологічної переробки і систем, які їх використовують. Крім того, композиції можуть використовуватися в інших галузях, де мікробна контамінація води та водних систем не є бажаною. Такі програми включають в себе миття фруктів та овочів під час обробки та обробку води, що використовуються при виробництві харчових продуктів, наприклад, її використання в тунельних пастеризаторах.

Компоненти композиції можуть бути поєднані, а потім додаватися у систему, що піддається обробці. Вони також можуть додаватися послідовно, в одній точці дозування, або в окремих точках дозування. Компоненти композиції можуть додаватися до води або водної системи окремо або змішуватися перед доданням. Середній спеціаліст у даній галузі техніки може легко визначити відповідний спосіб додання. Композиція може додаватися до води або водної системи з іншими добавками, такими як, але без обмеження такими, поверхнево-активні речовини, сполуки для контролю утворення накипу та корозії, іонні або неіонні полімери, агенти для контролю рН та інші добавки, які використовуються для зміни або модифікації хімічного складу води або водної системи. Крім того, композиції можуть використовуватися у воді і водних системах, які містять антимікробні агенти, відмінні від тих, що вказані в даному описі як синергетичні.

Значення рН водної системи, що піддається обробці, як правило, складає від 3 до 11, або від 3 до 7, або від 4 до 9, або від 4 до 8, або від 4 до 6,5, або від 4,5 до 6. У загальному випадку, органічні кислоти найкраще працюють в системах, де рН системи є меншим, ніж принаймні одне із значень рКа кислоти або її солі.

У деяких необмежувальних варіантах здійснення винаходу синергетичний водний розчин складається з двоокису хлору та екстрактів кислот хмелю, а також лимонної кислоти або її солі, де кислота хмелю та органічна кислота знаходяться у співвідношенні від 1:10 до 1: 6500 або від 1:25 до 1: 6400, або від 1:25 до 1: 1600, або від 1:25 до 1: 500, або від 1:25 до 1:100.

У деяких необмежувальних варіантах здійснення винаходу синергетичний водний розчин складається з двоокису хлору, а також пропіонової кислоти або її солі, де кислота хмелю та

органічна кислота знаходяться у співвідношенні від 1:12,5 до 1:800, бажано від 1:12,5 до 1:400, бажано від 1:12,5 до 1:50 або від 1:10 до 1: 6500, або від 1:25 до 1:6400, або від 1:25 до 1:1600, або від 1:25 до 1:500.

В одному варіанті здійснення винаходу синергетичний водний розчин складається з двоокису хлору та екстрактів кислот хмелю, а органічна кислота являє собою лимонну кислоту або її сіль. Лимонна кислота може використовуватися у кількості від 1000 част. на млн до 50 част. на млн або від 800 до 75 част. на млн, або від 600 до 100 част. на млн у водній системі, що піддається обробці. У загальному випадку у водній системі, що піддається обробці, використовується принаймні 50 част. на млн або принаймні 75 част. на млн., або принаймні 100 част. на млн лимонної кислоти. Кількість двоокису хлору, що використовується у водній системі, яка піддається обробці, складає від 1 част. на млн до 50 част. на млн, або від 1 част. на млн до 15 част. на млн або від 1 част. на млн до 10 част. на млн або від 5 част. на млн до 10 част. на млн, та більш бажана композиція містить від 5 до 10 част. на млн двоокис хлору або від 3 до 9 част. на млн двоокису хлору.

Винахід забезпечує синергетичні антимікробні комбінації та способи їх застосування у боротьбі з мікроорганізмами, наприклад, у промислових процесах ферментації для одержання етанолу або інших хімічних речовин.

При використанні в системі ферментації комбінація двоокису хлору, екстракту кислоти хмелю та органічної кислоти, бажано лимонної кислоти, може додаватися в різних точках системи ферментації, включаючи шламонакопичувач(і), підігрівач ферментера, охолоджувачі для сусла, біологічний термостат для вирощування мікроорганізмів та резервуари для ферментації. Фахівець у даній галузі техніки також може визначити інші точки додання.

У системах ферментації, що використовують даний спосіб, концентрація бактерій та інших небажаних мікроорганізмів може бути зменшена, у той час як розмноження та/або кондиціонування бажаних мікроорганізмів стимулюється. Було виявлено, що двоокис хлору в поєднанні з екстрактом принаймні однієї кислоти хмелю та принаймні однією органічною кислотою, переважно лимонною кислотою, або двоокис хлору в поєднанні з принаймні однією першою органічною кислотою, переважно лимонною кислотою, і принаймні другою органічною кислотою є ефективним при зниженні концентрації небажаних бактерій та інших небажаних мікроорганізмів, одночасно сприяючи розмноженню та/або кондиціонуванню бажаних мікроорганізмів. Поєднання цих продуктів забезпечує синергетичну, протимікробну обробку без застосування антибіотиків.

Один необмежувальний варіант здійснення даного способу для зниження концентрації небажаних мікроорганізмів, що стимулює розмноження бажаних мікроорганізмів та підвищує ефективність бажаних мікроорганізмів у водній системі, включає:

(а) введення здатного до ферментації вуглеводу у водну систему,

(б) введення принаймні одного виду дріжджів або бажаного мікроорганізму у водну систему, та

(в) введення двоокису хлору, екстракту принаймні однієї кислоти хмелю та принаймні однієї органічної кислоти у водну систему.

Двоокис хлору, екстракт кислоти хмелю та органічна кислота можуть бути введені у водну систему у вигляді суміші або окремо, або будь-які два у вигляді суміші, а третій окремо. Переважна органічна кислота являє собою лимонну кислоту.

Інший необмежувальний варіант здійснення даного способу для зниження концентрації небажаних мікроорганізмів, що стимулює розмноження бажаних мікроорганізмів та підвищує ефективність бажаних мікроорганізмів у водній системі, включає:

(а) введення деякої кількості здатного до ферментації вуглеводу у водну систему,

(б) введення деякої кількості дріжджів у водну систему, та

(в) введення двоокису хлору, принаймні одного екстракту кислоти хмелю та принаймні однієї органічної кислоти у водну систему.

Двоокис хлору, екстракт кислоти хмелю та органічна кислота можуть бути введені у водну систему у вигляді суміші або окремо, або будь-які два у вигляді суміші, а третій окремо. Переважна органічна кислота являє собою лимонну кислоту.

Один необмежувальний варіант здійснення даного способу для зниження концентрації небажаних мікроорганізмів, що стимулює розмноження бажаних мікроорганізмів та підвищує ефективність бажаних мікроорганізмів у водній системі, включає:

(а) введення здатного до ферментації вуглеводу у водну систему,

(б) введення принаймні одного дріжджового або бажаного мікроорганізму у водну систему, та

(в) введення двоокису хлору та принаймні однієї органічної кислоти, бажано лимонної

кислоти, та принаймні однієї другої органічної кислоти, що не є лимонною кислотою, у водну систему, де концентрація двоокису хлору у системі, що піддається обробці, складає принаймні 1 част. на млн або принаймні 5 част. на млн, або принаймні 10 част. на млн, а загальна концентрація органічних кислот складає принаймні 50 част. на млн або принаймні 75 част. на млн.

Двоокис хлору та принаймні одна перша органічна кислота та принаймні одна друга органічна кислота можуть бути введені у водну систему у вигляді суміші або окремо, або будь-які два у вигляді суміші, а третій окремо. Лимонна кислота являє собою переважну першу органічну кислоту.

Інший необмежувальний варіант здійснення даного способу для зниження концентрації небажаних мікроорганізмів, що стимулює розмноження бажаних мікроорганізмів та підвищує ефективність дріжджів у водній системі, включає:

(а) введення певної кількості здатного до ферментації вуглеводу у водну систему,

(б) введення певної кількості дріжджів у водну систему, та

(в) введення двоокису хлору та принаймні однієї органічної кислоти, бажано лимонної кислоти, та принаймні однієї другої органічної кислоти у водну систему, де концентрація двоокису хлору у системі, що піддається обробці, складає принаймні 1 част. на млн або принаймні 5 част. на млн, або принаймні 10 част. на млн, а загальна концентрація органічних кислот складає принаймні 50 част. на млн або принаймні 75 част. на млн.

Двоокис хлору та принаймні одна перша органічна кислота та принаймні одна друга органічна кислота можуть бути введені у водну систему у вигляді суміші або окремо, або будь-які два у вигляді суміші, а третій окремо. Лимонна кислота являє собою переважну першу органічну кислоту.

Етапи способу можуть бути виконані послідовно або в іншому порядку. Компоненти антимікробної системи можуть бути приведені в контакт з дріжджами або з вуглеводом, що піддається ферментації, або дріжджі та здатний до ферментації вуглевод можуть бути поєднані, а потім компоненти антимікробної системи вводять у комбінацію дріжджів та вуглеводу. Компоненти антимікробної системи можуть бути поєднані разом, а потім можуть додаватися до водної системи, або вони можуть додаватися окремо до водної системи. Водна система може перебувати в безперервному процесі або може являти собою резервуар у разі періодичного процесу.

У викладеному вище способі "небажані" мікроорганізми, концентрацію яких передбачається зменшити, є такими, які конкурують за поживні речовини з бажаними мікроорганізмами, які сприяють бажаним процесам ферментації. Небажані або шкідливі мікроорганізми у ферментації включають бактерії, що продукують молочну кислоту (LAB) та бактерії, які виробляють оцтову кислоту, серед яких *Lactobacillus* та *Acetobacter* є основними представниками. Будь-який мікроорганізм, який конкурує за здатний до ферментації субстрат, перешкоджаючи його використанню передбаченим для цього ферментаційним організмом і зменшуючи таким чином вихід продукту, можна вважати небажаним. У зв'язку із цим двоокис хлору, органічні кислоти і екстракт кислоти хмелю, що використовуються у даному способі, переважно не виявляють шкідливого впливу на ріст та життєздатність бажаних мікроорганізмів, що сприяють процесу ферментації, проте усувають або пригнічують ріст небажаних мікроорганізмів, які заважають процесу ферментації. Крім того, усунення або пригнічення небажаних мікроорганізмів має сприятливий вплив на ріст і життєздатність бажаних мікроорганізмів.

Двоокис хлору разом принаймні з однією органічною кислотою, переважно лимонною кислотою, та кислоти хмелю також можуть використовуватися в обробці води, що застосовується для миття фруктів та овочів. Незважаючи на те, що двоокис хлору використовується в деяких випадках для миття фруктів та овочів, наявність високих навантажень органічних речовин часто вимагає високих концентрацій двоокису хлору для своєї ефективності. Як правило, фрукти та овочі миють шляхом розпилення або зануренням фруктів або овочів у водний розчин з антимікробними агентами, де концентрації протимікробних препаратів є такими, які описані вище. Синергетичне поєднання двоокису хлору, принаймні однієї органічної кислоти, переважно лимонної кислоти, та кислоти хмелю означає, що більший антимікробний ефект може бути досягнутий зі зменшеними рівнями антимікробних агентів. Інше застосування двоокису хлору, принаймні однієї органічної кислоти, переважно лимонної кислоти, та кислоти хмелю може здійснюватися при одержанні води, яка використовується для приготування оброблених харчових продуктів або напоїв, або при здійсненні гігієнічних заходів у харчовій промисловості, як наприклад, підтримання промивної води в тунельних пастеризаторах. Як правило, двоокис хлору у поєднанні з принаймні однією органічною кислотою, переважно лимонною кислотою, та кислотами хмелю може використовуватися для

будь-якого застосування, в якому при розкладанні антимікробних засобів утворюється тільки сіль, вода і харчова добавка, що є бажаним результатом.

Виробництво паливного етанолу при використанні дріжджової ферментації використовується як приклад того, де даний винахід може використовуватися. Інші продукти ферментації, які можуть використовувати комбінацію двоокису хлору у поєднанні з двома органічними кислотами або комбінації двоокису хлору у поєднанні з органічною кислотою, бажано лимонною кислотою, кислотою хмелю можуть включати спирт-ректифікат, пиво, вино, фармацевтичні препарати, фармацевтичні проміжні сполуки, хлібобулочні продукти, нутрицевтики (харчові продукти, які забезпечують переваги для здоров'я, такі, як збагачені вітамінами продукти харчування та біологічно активні добавки), проміжні сполуки нутрицевтиків, промислово хімічну сировину та ферменти. Даний спосіб може також використовуватися для обробки дріжджів, які застосовують в хлібобулочній промисловості.

Дріжджі роду *Saccharomyces* є одним з типів корисних дріжджів, наприклад *Saccharomyces cerevisiae*. Дріжджі, відмінні від *Saccharomyces*, також можуть використовуватися у даному винаході. Дріжджі є не єдиними корисними мікроорганізмами, що використовуються в процесі ферментації. Додаткові бажані мікроорганізми для ферментації також можуть використовуватися та забезпечують переваги для даного винаходу, наприклад, гриби та бактерії, що звичайно використовуються у виробництві целюлозного етанолу. Деякі необмежувальні приклади бажаних мікроорганізмів для ферментації включають, але не обмежуються такими, як *Trichoderma reesei*, *Trichoderma* та *Clostridium ljungdahlii*.

Компоненти антимікробної системи (двоокис хлору в поєднанні з екстрактом кислоти хмелю та принаймні однією органічною кислотою, переважно лимонною кислотою, або двоокис хлору в поєднанні з принаймні однією першою органічною кислотою, переважно лимонною кислотою, та принаймні однією другою органічною кислотою), можуть додаватися в різних точках при процесах розмноження, кондиціонування та/або ферментації. Компоненти антимікробної системи можуть додаватися до резервуарів для приготування, ферментаційних чанів, резервуарів для розмноження, чанів для кондиціонування, стартерних резервуарів або під час скраплення. Компоненти антимікробної системи також можуть додаватися безпосередньо до кукурудзяного сусла. Компоненти антимікробної системи також можуть додаватися до проміжної теплообмінної системи або теплообмінників. Компоненти антимікробної системи також можуть додаватися до трубопроводу, що з'єднує ці одиниці, або системи теплообміну.

Компоненти антимікробної системи можуть додаватися безпосередньо у ферментаційну суміш. Це може бути зроблено шляхом додання компонентів антимікробної системи у поєднанні з дріжджами або іншими бажаними мікроорганізмами та здатним до ферментації вуглеводом, наприклад, на етапі SSF (одночасне оцукрювання та ферментація). Дозування являє собою концентрацію компонента у водній системі, що піддається обробці. Дози двоокису хлору від 1 до 100 част. на млн або від 1 до 75 част. на млн, або від 1 до 50 част. на млн, та дози екстракту кислоти хмелю від 0,5 до 20 част. на млн або від 0,5 до 15 част. на млн, або від 1 до 10 част. на млн, та дози органічної кислоти, бажано лимонної кислоти, від 75 до 1000 можуть додаватися безпосередньо у ферментаційну суміш. Для антимікробної системи з двоокисом хлору та двома органічними кислотами доза двоокису хлору буде складати від 1 до 100 част. на млн або від 1 до 75 част. на млн, або від 1 до 50 част. на млн, а загальна сума двох органічних кислот буде складати від принаймні 50 част. на млн аж до 2000 част. на млн, є бажаним, коли лимонна кислота є однією з двох кислот.

Двоокис хлору в поєднанні з екстрактом кислоти хмелю та принаймні однією органічною кислотою, бажано лимонною кислотою, також можуть додаватися до сусла перед здійсненням процесу ферментації. Дози двоокису хлору від 1 до 100 част. на млн або від 1 до 75 част. на млн, або від 1 до 50 част. на млн, та дози екстракту кислоти хмелю від 0,5 до 20 част. на млн або від 0,5 до 15 част. на млн, або від 1 до 10 част. на млн, та дози органічної кислоти, бажано лимонної кислоти, від 75 до 1000 можуть додаватися безпосередньо у ферментаційну суміш. Двоокис хлору в поєднанні з принаймні однією органічною кислотою, бажано лимонною кислотою, та принаймні другою органічною кислотою можуть додаватися до сусла перед здійсненням процесу ферментації. Для антимікробної системи з двоокисом хлору та двома органічними кислотами доза двоокису хлору буде складати від 1 до 100 част. на млн або від 1 до 75 част. на млн, або від 1 до 50 част. на млн, а загальна сума двох органічних кислот буде складати від принаймні 50 част. на млн аж до 2000 част. на млн.

Двоокис хлору у поєднанні з екстрактом екстракту хмелю та принаймні однією органічною кислотою, або двоокис хлору у поєднанні з принаймні екстрактом першої органічної кислоти та принаймні однією другою органічною кислотою можуть також додаватися під час розмноження та/або кондиціонування. Наприклад, двоокис хлору у поєднанні з екстрактом хмелю та

органічною кислотою може додаватися до дріжджової суспензії перед заміною SSF стадією промивання.

Антимікробні системи за даним винаходом, а саме двоокис хлору в поєднанні з кислотою хмелю та принаймні однією органічною кислотою або двоокис хлору в поєднанні з принаймні однією першою органічною кислотою та принаймні другою органічною кислотою, можуть використовуватися для досягнення поліпшених результатів у виробництві целюлозного етанолу. Целюлозний етанол є одним з видів етанолу, який виробляється з целюлози, на відміну від цукру і крохмалю, які використовуються у виробництві етанолу на основі вуглеводів. Целюлоза є присутньою в нетрадиційних джерелах біомаси, таких, як просо, кукурудзяна солома та продукти лісівництва. Цей тип виробництва етанолу є особливо привабливим через велику доступність джерел целюлози. Целюлозний етанол завдяки самій природі сировинного матеріалу має більш високі рівні забруднюючих речовин та конкурентних мікроорганізмів у процесі ферментації. Антимікробні системи даного винаходу можуть використовуватися у виробництві целюлозного етанолу для контролю небажаних мікроорганізмів. Дози двоокису хлору від 1 до 100 част. на млн або від 1 до 75 част. на млн, або від 1 до 50 част. на млн, та дози екстракту кислоти хмелю від 0,5 до 20 част. на млн або від 0,5 до 15 част. на млн, або від 1 до 10 част. на млн, та дози органічної від 75 до 1000 можуть використовуватися у виробництві целюлозного етанолу. Двоокис хлору в поєднанні з принаймні однією першою органічною кислотою, бажано лимонною кислотою, та принаймні другою органічною кислотою може також використовуватися у виробництві целюлозного етанолу, де дозування двоокису хлору складає від 1 до 100 част. на млн або від 1 до 75 част. на млн, або від 1 до 50 част. на млн, а загальна сума двох органічних кислот буде складати від принаймні 50 част. на млн аж до 2000 част. на млн.

Існує два основних процеси виробництва спирту з целюлози. Один процес являє собою процес гідролізу, який використовує гриби такі, як, наприклад, *Trichoderma reesei* та/або *Trichoderma viride*. Інший являє собою процес газифікації при використанні бактерій таких, як *Clostridium ljungdahlii*. Антимікробні системи даного винаходу можуть використовуватися у будь-якому з цих процесів.

У процесі гідролізу ланцюги целюлози розкладаються з утворенням п'ятивуглецевих та шестивуглецевих цукрів до початку процесу ферментації. Це здійснюється або хімічно, або ферментативно.

У способі хімічного гідролізу целюлозу можна піддавати обробці при використанні розведеної кислоти при високій температурі та тиску або при використанні концентрованої кислоти при більш низькій температурі та атмосферному тиску. У процесі хімічного гідролізу целюлоза реагує з кислотою і водою з утворенням окремих молекул цукру. Ці молекули цукру потім нейтралізують, та використовують дріжджову ферментацію для виробництва етанолу. Антимікробні системи у відповідності з даним винаходом можуть використовуватися під час процесу дріжджової ферментації як частина цього способу.

Ферментативний гідроліз може здійснюватися при використанні двох способів. Перший є відомим як безпосередня мікробна конверсія (DMC). Спосіб DMC використовує один мікроорганізм для перетворення целюлозної біомаси на етанол. Етанол та необхідні ферменти виробляються тим самим мікроорганізмом. Антимікробні системи даного винаходу можуть використовуватися під час етапів розмноження/кондиціонування або ферментації при використанні цього спеціалізованого організму.

Другий спосіб є відомим як спосіб ферментативного гідролізу. У цьому способі ланцюги целюлози розриваються за допомогою целюлазних ферментів. Ці ферменти, як правило, є присутніми у шлунках жуйних тварин таких, як корови та вівці, щоб розкласти целюлозу, яку вони поїдають. Ферментативний спосіб, як правило, здійснюють у чотири або п'ять етапів. Целюлозу піддають попередній обробці для того, щоб зробити сировину таку, як деревина або солома, більш придатною для гідролізу. Далі використовуються целюлазні ферменти для розщеплення молекул целюлози до здатного до ферментації цукру. Після гідролізу цукри відокремлюють від залишкових матеріалів та додають до дріжджів. Гідролізат цукрів піддають ферментації з одержанням етанолу при використанні дріжджів. На завершення, відновлюють етанол шляхом дистиляції. Альтернативно, гідроліз і ферментація можуть здійснюватися разом при використанні спеціальних бактерій або грибів, які здійснюють обидва процеси. Коли обидва етапи виконуються сумісно, то процес називається послідовним гідролізом та ферментацією (SHF).

Антимікробні системи у відповідності з даним винаходом можуть бути введені для мікробіологічної ефективності в різних точках в ферментативного способу гідролізу. Антимікробні системи у відповідності з даним винаходом можуть використовуватися в

одержанні, виробництві та ферментації целюлазних ферментів, які виробляються *Trichoderma* та іншими штамми грибів. В антимікробних системах даного винаходу кислота може додаватися у целюлозу одночасного з етапом оцукрювання та ферментації (SSF). Антимікробні системи у відповідності з даним винаходом можуть бути введені на етапі послідовного гідролізу та ферментації (SHF). Вони також можуть вводитися до, під час або після ферментації при використанні целюлолітичних грибів, які продукують целюлазні ферменти. Альтернативно, антимікробні системи у відповідності з даним винаходом можуть додаватися на етапі ферментації дріжджів, як обговорювалося вище.

Процес газифікації не розриває ланцюг целюлози у молекулах цукру. Спочатку вуглець у целюлозі перетворюється на монооксид вуглецю, двоокис вуглецю і водень в частковій реакції горіння. Після цього монооксид вуглецю, двоокис вуглецю і водень подають у спеціальній ферментер, який використовує мікроорганізм такий, як *Clostridium ljungdahlii*, що є здатним споживати монооксид вуглецю, двоокис вуглецю та водень з утворенням етанолу та води. На завершення, етанол відокремлюється від води на етапі дистиляції. Антимікробні системи даного винаходу можуть використовуватися як антимікробний агент на стадії ферментації за участю таких мікроорганізмів, як *Clostridium ljungdahlii*, які здатні споживати монооксид вуглецю, двоокис вуглецю та водень з утворенням етанолу та води.

В одному необмежувальному варіанті здійснення винаходу двоокис хлору, кислоти хмелю та принаймні одну органічну кислоту змішують в резервуарі та розводять до попередньої визначеної концентрації у заданому співвідношенні. У резервуарі двоокис хлору, кислоти хмелю, переважно у формі екстракту ізомеризованої альфа-кислоти, та органічну кислоту, переважно лимонну кислоту, розчиняють у воді з утворенням суміші двоокис хлору/кислота хмелю/органічна кислота. Концентрація розчину двоокису хлору, розчину екстракту кислоти хмелю і розчину органічної кислоти у дозувальному резервуарі може варіювати в широкому діапазоні. Змішаний розчин двоокису хлору/екстракту кислоти хмелю/розчину органічної кислоти потім випускають з дозувального резервуару через випускний отвір при вказаній швидкості дозування з утворенням розчину бажаної концентрації.

В одному необмежувальному варіанті здійснення винаходу двоокис хлору, принаймні одну першу органічну кислоту та принаймні другу органічну кислоту поєднують у резервуарі та розводять до заданої концентрації у заданому співвідношенні. У резервуарі двоокис хлору, принаймні одну першу органічну кислоту, бажано лимонну кислоту, та принаймні другу органічну кислоту, бажано пропіонову кислоту або бензойну кислоту, або їх солі, розчиняють у воді з утворенням суміші двоокис хлору/кислота хмелю/органічна кислота. Концентрації двоокису хлору та органічних кислот у розчині у дозувальному резервуарі можуть варіювати в широкому діапазоні. Змішаний розчин двоокису хлору/органічних кислот хмелю потім випускають з дозувального резервуару через випускний отвір при вказаній швидкості дозування з утворенням розчину бажаної концентрації.

#### ПРИКЛАДИ

Індекси синергізму, наведені в прикладах, що приведені нижче, використовують наступну формулу, яка є модифікацією формули, приведеної у F.C. Kull, P.C. Eisman, H.D. Sylwestrowka, and R.L. Mayer, *Applied Microbiology* 9: 538-541, 1961.

Індекс синергізму =  $Qa/QA + Qb/QB + Qc/QC$

де Qa являє собою концентрацію антимікробного агенту A, яка є необхідною для досягнення повного інгібування росту тест-мікроорганізму при використанні у поєднанні з протимікробними препаратами B та C;

QA являє собою концентрацію антимікробного агенту A, яка є необхідною для досягнення повного інгібування росту тест-мікроорганізму при використанні антимікробного агенту окремо;

Qb означає концентрацію антимікробного агенту B, яка є необхідною для досягнення повного інгібування росту тест-мікроорганізму при використанні у поєднанні з протимікробними препаратами A та C;

QB являє собою концентрацію антимікробного агенту B, яка є необхідною для досягнення повного інгібування росту тест-мікроорганізму при використанні антимікробного агенту окремо;

Qc являє собою концентрацію антимікробного агенту C, яка є необхідною для досягнення повного інгібування росту тест-мікроорганізму при використанні у поєднанні з протимікробними препаратами A та B;

QC являє собою концентрацію антимікробного агенту C, яка є необхідною для досягнення повного інгібування росту тест-мікроорганізму при використанні антимікробного агенту окремо.

Індекс синергізму (SI) 1 вказує на те, що взаємодії між антимікробними агентами є просто адитивними, SI більше одиниці вказує на те, що протимікробні агенти є антагоністами один по відношенню до іншого, а SI менше одиниці вказує на те, що протимікробні агенти взаємодіють

синергетичним чином.

Незважаючи на те, що існують різні способи, відомі фахівцям у даній галузі техніки для вимірювання рівнів антимікробної активності, у наведених нижче прикладах використовувалася критична точка, що є відомою як мінімальна інгібувальна концентрація, або MIC. Вона являє собою найбільш низьку концентрацію речовини або речовин, за якої можна досягти повного інгібування росту.

Для того щоб визначити мінімальну інгібувальну концентрацію здійснюють двократні серійні розведення у ростовому середовищі. Розведення проводять у мікропланшетах на 96 комірок так, що кожна комірка містить заключний об'єм 280 мкл середовища та протимікробний агент. Перша комірка має, наприклад, концентрацію 1000 част. на млн протимікробного агенту, друга - 500 част. на млн, третя - 250 част. на млн. і так далі, з 12-ою та останньою коміркою у тому ж ряді, що не мають антимікробного агенту взагалі і служать як позитивний контроль росту. Після проведення серійних розведень у комірки вносять інокулят мікроорганізмів, суспендований у ростовому середовищі, так, що заключна концентрація мікроорганізмів у комірці складає  $\sim 5 \times 10^5$  КУО/мл. У цих прикладах використовуваний тест-мікроорганізм являє собою *Lactobacillus plantarum*. Культури інкубують при прийнятній температурі протягом 18-24 годин, і комірки оцінюють як позитивні або негативні за ростом на основі візуальної перевірки на помутніння для комірок. Найнижча концентрація антимікробного агенту, яка повністю інгібує ріст (наприклад, вміст комірки є прозорим), позначається як мінімальна інгібувальна концентрація.

Для того щоб визначити, чи є взаємодія між трьома антимікробними агентами адитивною, антагоністичною або синергетичною стосовно цільового мікроорганізму використовується модифікація MIC способу, відома як спосіб "шахової дошки" із застосуванням мікропланшетів на 96 комірок. Планшет для вивчення синергізму при здійсненні способу "шахової дошки" для двох антибактеріальних препаратів використовується у  $8 \times 8$  двовимірній сітці на одному мікропланшеті. Метод потрібного синергізму використовує  $8 \times 8 \times 8$  тривимірну сітку, із застосуванням блоку з 8 мікропланшетів. Для конструювання шахового планшету протимікробний препарат А вноситься у ростове середовище. Антимікробний агент розчиняється у ростовому середовищі та розподіляється у восьми планшетах; таким чином, кожний планшет має одну концентрацію антимікробного препарату А. Загалом готують 8 планшетів, кожний з яких містить різні концентрації антимікробного препарату А. Другий антимікробний засіб (протимікробний агент В) вносять при використанні способу двократного серійного розведення для конструювання MIC планшету, в якому кожен з восьми рядів (А-Н) є ідентичним серійним розведенням концентрацій, що зменшуються, які закінчуються після восьмого стовпчика. Третій антимікробний препарат (антимікробний агент С) розгортають шляхом додання ідентичних об'ємів однієї концентрації антимікробного агенту до кожного стовпчика (1-8), де кожний стовпчик отримує іншу концентрацію. Таким чином, стовпчик 1 одержує об'єм середовища плюс антимікробний агент С при концентрації 1000 мкМ, стовпчик 2 отримує об'єм середовища плюс антимікробний засіб при концентрації 500 мкМ, і т.д. В результаті цього кожна комірка сітки  $8 \times 8$  має різні комбінації концентрацій антимікробних агентів, що забезпечує одержання загальної кількості 64 різних комбінацій антимікробних агентів В та С з антимікробним агентом А, концентрація якого залишається постійною. Кожний з восьми планшетів має ідентичні сітки протимікробних препаратів В та С, але з різними концентраціями антимікробного агенту А, що забезпечує в цілому 512 різних комбінацій антимікробних препаратів А плюс В плюс С. Це фактично являє собою сітку  $8 \times 8 \times 8$ . 9-ий та 10-ий стовпчики кожного планшету не мають протимікробного агенту взагалі, тільки середовище, і служать позитивним та негативним контролю росту, відповідно. Після того, як сконструйовано шаховий мікропланшет, його засівають *Lactobacillus plantarum*, інкубують при 37 °С та оцінюють так, як описано в способі MIC. На Фігурі 1 представлена схема планшету "шахова дошка".

Приклад 1: Синергізм двоокису хлору з кислотами хмелю та лимонною кислотою

Мінімальні інгібувальні концентрації визначали для двоокису хлору, кислоти хмелю та лимонної кислоти при рН 5 при використанні пропису, описаного вище, застосовуючи *Lactobacillus plantarum* як тест-мікроорганізм. Планшети для вивчення потрібного синергізму конструювали так, як описано вище, комірки інокулювали з одержанням заключної концентрації  $\sim 5 \times 10^5$  КУО/мл, інкубували протягом 18-24 годин, а потім оцінювали візуально на ріст / відсутність росту. Індeksi синергізму розраховували за модифікованою формулою так, як описано Kull та ін. Цей приклад демонструє, що ефект поєднання двоокису хлору, кислот хмелю та лимонної кислоти є більшим, ніж ефект будь-якого одного з антимікробних препаратів. Кількість двоокису хлору, необхідного для інгібування росту бактерій, знижувалася з 54 част. на млн до 2,75-40 част. на млн. Концентрація кислот хмелю зменшувалася з 5 част. на млн до

діапазону 0,625-2,5 част. на млн, а концентрація лимонної кислоти знижується з 6250 част. на млн. до 78-1250 част. на млн.

Таблиця 1

Використовується окремо			Використовується у комбінації				
MIC (QA) для CIO2 част. на млн	MIC (QB) кислоти хмелю част. на млн	MIC (QC) лимонної кислоти част. на млн	MIC (Qa) для CIO2 част. на млн	MIC (Qb) кислоти хмелю част. на млн	MIC (Qc) лимонної кислоти част. на млн	CIO2: кислота хмелю: лимонна кислота співвід- ношення	SI
54	5	6250	35	1,25	78	28:1:62,4	0,91
54	5	6250	35	0,625	78	56:1:124,8	0,79
54	5	6250	18,8	2,5	156	7,52:1:62,4	0,87
54	5	6250	37,5	1,25	156	30:1:124,8	0,97
54	5	6250	37,5	0,625	156	60:1:249,6	0,84
54	5	6250	20	2,5	313	8:1:125,2	0,92
54	5	6250	40	0,625	313	64:1:500,8	0,92
54	5	6250	21,25	2,5	625	8,5:1:250	0,99
54	5	6250	2,75	2,5	1250	1.1:1:500	0,75

#### 5 Приклад 2: Дані щодо ферментації в лабораторних умовах

Оцінку проводили у Національному науково-дослідницькому центрі з переробки кукурудзи на етанол, використовуючи двоокис хлору, екстракти кислоти хмелю і лимонну кислоту. Зразки для дослідження та їх концентрації можуть бути знайдені Фігурі 2 та у Таблиці 2. Аналізи проводили для того, щоб оцінити ефекти потрібних протимікробних препаратів на виробництво етанолу з кукурудзяного сусла за умов, які є аналогічними тим, що використовуються в промисловості паливного етанолу. Були досліджені два специфічні ефекти: (1) здатність антимікробних препаратів впливати на вихід етанолу і перетворювати цукор у процесі ферментації при забрудненні молочнокислими бактеріями, і (2) здатність антимікробних препаратів контролювати бактеріальні інфекції у порівнянні з контрольною ферментацією за відсутності бактерій. Готували три наважки по 160 г суспензії кукурудзяного борошна, води і ферменту (30 % ваг./ваг. від сухої речовини) для кожної обробки та контролю (інокульовані та неінокульовані). Суспензії інкубували протягом 90 хвилин при 83 °C, охолоджували до 40 °C, а потім інокулювали *L. plantarum*. Після цього у суспензії вводили антимікробні препарати. У колби Ерленмейера на 250 мл вносили дози двоокису хлору, екстрактів кислоти хмелю та лимонної кислоти, і зразки відбирали через 15, 30 та 60 хвилин після додання антимікробного препарату. Після узяття зразків у 3 моменти часу, рН сусла доводили до значення < 5,2 шляхом додання 300 мкл 5-N сірчаної кислоти. Усі ферменти, поживні речовини та інші компоненти додавали до свіжоприготовлених перед використанням колб для ферментації. Сечовину додавали у вигляді стерильного розчину 0,2 г/мл до одержання заключної концентрації 500 част. на млн. (ваг./ваг.) у розрахунку на вміст азоту сечовини (ваг./ваг., у розрахунку на загальну масу сусла). Глюкоамілазний фермент (Spirizyme Excel, Novozymes) отримували у вигляді розчину 0,25 г/мл і додавали у дозі 0,066 % (ваг./ваг., на основі сирої ваги зерна). Стерильну воду додавали до вирівнювання загального вмісту твердих речовин для кожної обробки. Всі ферментаційні колби інокулювали при використанні суспензії дріжджів 0,2 г/мл (*Saccharomyces cerevisiae*). Цю суспензію інкубували та перемішували протягом 30 хвилин при 40 °C перед інокуляцією у колби для ферментації. Кожну колбу для ферментації інокулювали 170 мкл суспензії дріжджів для досягнення початкової концентрації  $1 \times 10^7$  клітин дріжджів/мл. Маса кожної колби реєстрували після того, як додавали усі компоненти, потім ферментаційні пастки, які піддавалися дезінфекції, поміщали у кожну колбу, і знову зважували. Колби інкубували при 32 °C при струшуванні при 170 оборотах за хвилину в термостаті / пристрої для струшування протягом 64 годин. Розвиток процесу ферментації піддавали моніторингу за допомогою періодичного зважування ферментаційних колб протягом 3 днів інкубації (через 0, 17,5, 22,5, 42,5, 48 і 64 години після інокуляції дріжджами). Концентрації субстратів (глюкози, DP2, DP3 і DP4+, де "DPx" являє собою олігомери глюкози з "x" субодиницями) і продукти (етанол, гліцерин, молочна кислота та оцтова кислота) вимірювали при використанні ВЕРХ наприкінці ферментації.

Зразки готували для ВЕРХ шляхом центрифугування для видалення великих твердих

частинок з подальшою фільтрацією через фільтри 0,45 мкм у формі шприців і підкислювали до значення рН приблизно 2 шляхом додання сірчаної кислоти до одержання заключної концентрації 0,01N. Заключне значення рН, концентрації усіх сухих речовин і розчинених сухих твердих речовин, а також щільність фільтрату пива вимірювали після інкубації протягом 64 годин. Зразки з кожної колби засівали для одержання значення кількості бактеріальних колоній.

Таблиця 2

Час (години)	Контроль (КУО/мл)	5 част. на млн. ClO <sub>2</sub> /5 част. на млн кислот хмелю /200 част. на млн лимонної кислоти (КУО/мл)
0,25	1200000	1220000
0,5	1340000	1700000
1	10300000	3000000
64	55600	12800

Цей приклад показує, що під час ферментації 5 част. на млн двоокису хлору у поєднанні з 5 част. на млн. кислот хмелю, у поєднанні з 200 част. на млн лимонної кислоти є ефективним у зниженні кількості бактерій, що є несподівано низьким після спостереження даних лабораторного MIC та синергізму.

Фігура 3 та Таблиця 3 показують середні виходи етанолу для неінфікованого контролю та три зразки після ферментації. Ніяких істотних відмінностей не спостерігалось в середньому виході етанолу для усіх способів обробки ( $P=0,769$ ), при використанні ANOVA. На Фігурі 3 та у Таблиці 3 дані представляють собою середнє значення з трьох незалежних ферментаційних колб у повторностях.

Таблиця 3

Зразок	Вихід етанолу (г етанолу/ г сухої кукурудзи)
Контроль, вільний від інфекції	0,388
5 част. на млн. ClO <sub>2</sub> /5 част. на млн кислот хмелю/200 част. на млн лимонної кислоти	0,377

20

## ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Водна композиція, призначена для боротьби з мікроорганізмами в промислових процесах, яка включає:

- (а) двоокис хлору,  
 (б) кислоти хмелю, та  
 (в) лимонну кислоту або її солі,  
 де концентрація двоокису хлору складає принаймні 1 част. на млн або 5 част. на млн, або 15 част. на млн, де концентрація кислот хмелю складає принаймні 0,5 част. на млн або 1 част. на млн та де концентрація лимонної кислоти складає принаймні 50 част. на млн або 75 част. на млн, або 100 част. на млн.

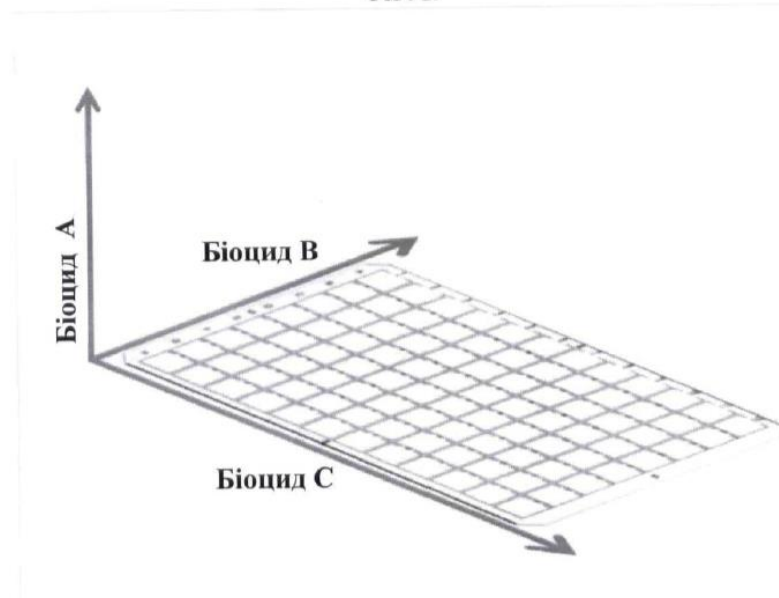
2. Композиція за пунктом 1, в якій принаймні одна кислота хмелю є вибраною з групи, яка складається зі сполуки бета-кислот, альфа-кислот, ізомеризованих альфа-кислот, rho-ізомеризованих альфа-кислот, тетра-ізомеризованих альфа-кислот, гекса-ізомеризованих альфа-кислот або їх комбінації.

3. Композиція за пунктом 1, де співвідношення двоокису хлору та лимонної кислоти складає від 1:1 до 1:15000 або від 1:1 до 1:10000, або від 1:1 до 1:2000, або від 1:1 до 1:1000, або від 1:4 до 1:10000, або від 1:4 до 1:2000, або від 1:4 до 1:1000, або від 1:20 до 1:100.

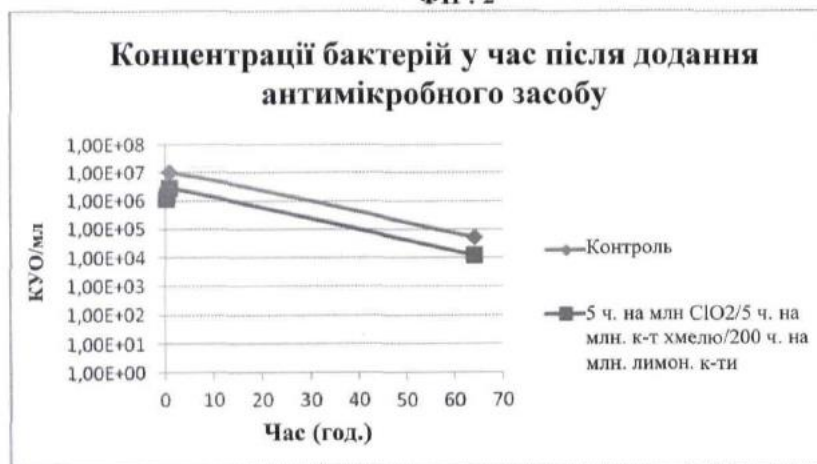
4. Композиція за будь-яким з пунктів 1-3, в якій концентрація двоокису хлору складає від принаймні від 1 част. на млн до 50 част. на млн або від 5 до 10 част. на млн, та в якій концентрація кислот хмелю складає від принаймні 0,5 част. на млн до 20 част. на млн або від 5 до 10 част. на млн, та в якій концентрація лимонної кислоти складає від принаймні 50 част. на млн до 5000 част. на млн або від 100 част. на млн до 500 част. на млн.

5. Спосіб боротьби з концентрацією небажаних мікроорганізмів у водній системі, де спосіб включає наступні етапи:
  - (а) введення двоокису хлору у водну систему,
  - (б) введення лимонної кислоти або її солей у водну систему,
  - 5 (в) введення кислот хмелю у водну систему,де концентрація двоокису хлору складає принаймні 1 част. на млн у водній системі, що піддається обробці, а співвідношення двоокису хлору до лимонної кислоти складає від 1:1 до 1:64000.
6. Спосіб за пунктом 5, де концентрація двоокису хлору складає принаймні 10 част. на млн у системі, що піддається обробці.
- 10 7. Спосіб за пунктом 5, де двоокис хлору має концентрацію від 1 част. на млн до 50 част. на млн у водній системі, що піддається обробці, або від 5 до 10 част. на млн двоокису хлору.
8. Спосіб за будь-яким з пунктів 5-7, де співвідношення двоокису хлору та лимонної кислоти складає від 1:4 до 1:1000.
- 15 9. Спосіб боротьби з концентрацією небажаних мікроорганізмів у водній системі, що використовується у ферментаційному процесі, де спосіб включає наступні етапи:
  - (а) введення здатного до ферментації вуглеводу у водний розчин;
  - (б) введення принаймні одного виду дріжджів у вказаний розчин;
  - (в) введення двоокису хлору у водну систему;
  - 20 (г) введення лимонної кислоти або її солей у водну систему;
  - (д) введення кислоти хмелю у водну систему,де концентрація двоокису хлору складає принаймні 1 част. на млн у водній системі, що піддається обробці.
10. Спосіб за пунктом 9, де концентрація двоокису хлору складає принаймні 10 част. на млн у системі, що піддається обробці.
- 25 11. Спосіб за пунктом 9, де двоокис хлору має концентрацію від 1 част. на млн до 50 част. на млн у водній системі, що піддається обробці, або від 5 до 10 част. на млн двоокису хлору.
12. Спосіб за будь-яким з пунктів 9-11, де співвідношення двоокису хлору та лимонної кислоти складає від 1:4 до 1:1000.

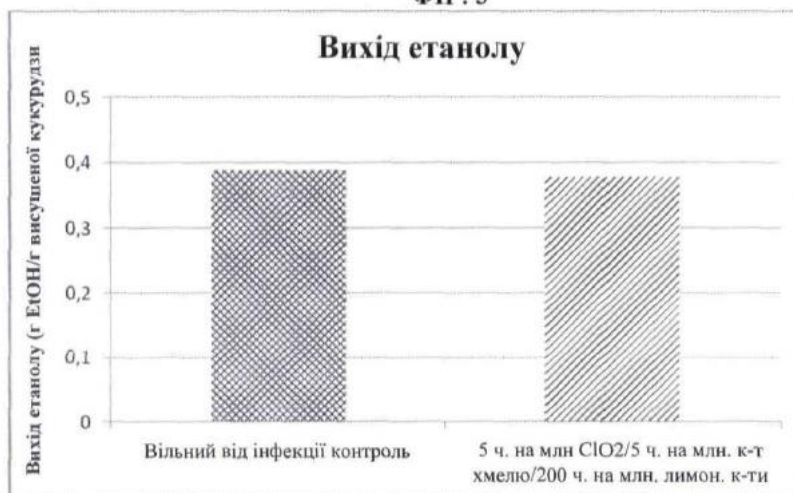
ФІГ. 1.



ФІГ. 2



ФІГ. 3



Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601