



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

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

(11)



1-0032779

(51)⁸ C12C 3/12; C12H 1/16

(13) B

(21) 1-2018-03897

(22) 03/02/2017

(86) PCT/EP2017/052450 03/02/2017

(87) WO2017/134263 10/08/2017

(30) 16154513.2 05/02/2016 EP

(45) 25/08/2022 413

(43) 26/11/2018 368A

(73) HEINEKEN SUPPLY CHAIN B.V. (NL)

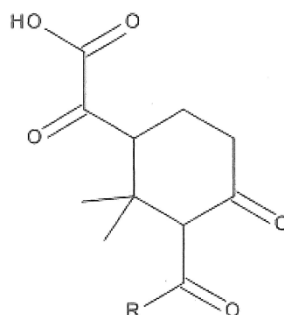
Burgemeester Smeetsweg 1, 2382 PH Zoeterwoude, The Netherlands

(72) BROUWER, Eric Richard (NL); DEKONINCK, Tinne (BE); VANBENEDEN, Nele (BE); VAN VEEN, Marcel (NL); SCHOUTEN, Maria Elizabeth Wilhelmina (NL).

(74) Công ty Luật TNHH quốc tế BMVN (BMVN INTERNATIONAL LLC)

(54) BIA CHỨA CHIẾT PHẨM HUBLÔNG BỀN VỚI ÁNH SÁNG, CHIẾT PHẨM HUBLÔNG BỀN VỚI ÁNH SÁNG VÀ QUY TRÌNH SẢN XUẤT BIA NÀY

(57) Sáng chế đề xuất chiết phẩm hublông bền với ánh sáng chứa một hoặc nhiều hợp chất từ hublông được biểu diễn bởi công thức (I) với lượng ít nhất là 1 g trên kg chất khô:



(I)

trong đó R = -CH(CH₃)₂, -CH(CH₃)CH₂CH₃ hoặc -CH₂CH(CH₃)₂. Sáng chế còn đề xuất bia chứa chiết phẩm hublông bền với ánh sáng và phương pháp sản xuất bia chứa chiết phẩm hublông này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế liên quan đến các chiết phẩm hublông (hop) bền với ánh sáng và việc ứng dụng các chiết phẩm hublông này trong bia. Sáng chế còn đề xuất phương pháp điều chế chiết phẩm hublông bền với ánh sáng, phương pháp này bao gồm việc chiếu sáng chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước. Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất bia chứa chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này và quy trình sản xuất bia chứa chiết phẩm hublông này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các hublông là các hoa cái của cây hublông *Humulus lupulus*. Chúng được sử dụng làm một thành phần trong bia, tạo hương vị đắng, thơm cho bia. Các hublông thường được sấy trong nhà sấy hublông (oast house) trước khi sử dụng các hublông này trong quá trình nấu bia. Trong quá trình nấu bia, dịch nha (chất lỏng chứa nhiều đường được tạo ra từ mạch nha) được đun sôi cùng với hublông trước khi được làm lạnh và được bổ sung thêm nấm men, để bắt đầu lên men.

Việc đun sôi dịch nha cùng với các hublông làm chiết xuất các alpha axit (các humulon, chẳng hạn như humulon, adhumulon, cohumulon, posthumulon và prehumulon) vào trong dịch nha ngọt này, các alpha axit này bị đồng phân hóa một phần thành các iso-alpha axit (các isohumulon) tương ứng dưới tác động của nhiệt độ (sự đồng phân hóa bởi nhiệt). Chính các iso-alpha axit này tạo ra vị đắng đặc trưng của bia đã được cho hublông vào. Các mức alpha axit thông thường trong dịch nha tại thời điểm dịch nha này bắt đầu sôi là nhỏ hơn 0,01% theo khối lượng (dưới 100 ppm). Các nhược điểm của phương pháp cho hublông vào theo cách thông thường này để tạo vị đắng là việc chiết xuất và đồng phân hóa alpha axit không hiệu quả, thường làm cho lượng iso-alpha axit thu hồi được nhỏ hơn 40%.

Có thể cải thiện đáng kể việc sử dụng hublông bằng cách thực hiện quá trình đồng phân hóa alpha axit này bên ngoài quá trình nấu bia. Về vấn đề này, các sản phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước đã được phát triển. Các sản phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước này được sản xuất bắt đầu từ chiết phẩm hublông.

Các chiết phẩm hublông thường được thu hồi bằng cách chiết xuất cacbon đioxit lỏng hoặc siêu tới hạn. Các chiết phẩm hublông được thu hồi bằng cách chiết xuất cacbon đioxit cung cấp chủ yếu các alpha axit (các humulon), tiếp đến là các beta axit (các lupulone), và chúng có thể còn được cắt phân đoạn để thu được các chiết phẩm hublông giàu alpha axit. Từ các chiết phẩm chứa alpha axit này, có thể thực hiện được quá trình đồng phân hóa trước “ngoại tuyến” ("off-line") các alpha axit bên ngoài quá

trình nấu bia (đun sôi dịch nha) bằng cách sử dụng các hợp chất nền kim loại kiềm và/hoặc nền kim loại kiềm thổ bằng hai phương pháp. Phương pháp thứ nhất áp dụng môi trường phản ứng không chứa dung môi trong khi trong phương pháp thứ hai, thực hiện quá trình biến đổi sau khi bổ sung thêm các dung môi, hoặc là nước tinh khiết hoặc theo cách khác là nước được trộn với dung môi hữu cơ.

Đã biết đến sự đồng phân hóa alpha axit thành các iso-alpha axit bằng cách quang phân. Ví dụ, Công bố đơn sáng chế Úc AU 7540281A mô tả quy trình làm giàu các hợp chất đắng từ các hublông, và cụ thể hơn là các alpha- và beta axit tinh khiết trong thực tế thu được từ chiết phẩm hublông đã được tinh chế ở mức cao, cụ thể là bằng cách xử lý bằng cacbon đioxit lỏng, khác biệt ở chỗ các alpha và/hoặc beta axit này được quang phân bằng ánh sáng mặt trời, trong quãng thời gian được xác định trước, trong các điều kiện được thích ứng để tạo ra hiệu suất dạng tối ưu trong các điều kiện nhiệt độ thích hợp, tốt hơn là gần bằng 60°C, để thu được các iso-alpha axit và các deoxy-alpha axit tương ứng.

Patent Mỹ số US 4,767,640 mô tả phương pháp điều chế sản phẩm hublông bền với ánh sáng chủ yếu gồm có các isohumulon đã được khử, và các isohumulon không được khử với lượng nhỏ hơn 0,5% và các sản phẩm không bền không phải là các isohumulon. Ví dụ 1 mô tả quy trình trong đó chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa được khử, sau đó axit hóa và phân tách thành lớp nước và lớp dầu. Phần chiết chứa dầu thu được như vậy chứa isohumulon đã được khử với lượng là 70%, chất nền với lượng là 6,5% và isohumulon chưa được khử với lượng nhỏ hơn 0,5%. Ví dụ 3 mô tả cách phân chiết chứa dầu này được tinh chế thêm để tạo ra “Pha nước được tinh chế thêm” (Post Purified Aqueous Phase) và “Pha dầu được tinh chế thêm” (Post Purified Oil Phase). Ví dụ 4 mô tả sự phân tách bằng sắc ký phân chiết chứa dầu trong Ví dụ 1 thành ba phần. Ví dụ 5 mô tả thử nghiệm đánh giá độ bền với ánh sáng của các phân chiết đã được tinh chế nêu trên (“Pha nước được tinh chế thêm” và “Pha dầu được tinh chế thêm”) và của ba phần sắc ký này. Thử nghiệm này được thực hiện bằng cách bổ sung thêm các chất này vào bia và chiếu xạ trong 2 giờ bằng ánh sáng huỳnh quang với cường độ ánh sáng 600 phút-nến (foot-candles) (tương đương 12458,4 lux).

Công bố đơn sáng chế quốc tế WO 93/02177 mô tả quy trình sản xuất chất ổn định bọt và tạo vị đắng cho đồ uống làm từ mạch nha khác biệt bởi việc chiết các hublông trong các điều kiện thuận lợi cho việc phân tách và thu hồi phân đoạn giàu adprehumulon, và cho đồng phân hóa bằng ánh sáng phân đoạn adprehumulon này để tạo ra iso-adprehumulon.

Đã biết rõ rằng chất lượng hương vị của bia bị ảnh hưởng xấu bởi việc bị phơi sáng, một hiện tượng thường được gọi là hương vị "bị chiếu ánh sáng" ("lightstruck") (nghĩa là, có mùi cà phê tươi do bị oxi hóa bởi ánh sáng) hoặc "bị mặt trời chiếu sáng"

("sunstruck") (nghĩa là, có mùi cà phê tươi do bị oxi hóa bởi ánh sáng mặt trời), và hiện tượng này là do sự thoái biến của các iso-alpha axit do ánh sáng gây ra.

Cơ chế chính thức tạo ra hương vị "mùi cà phê tươi do bị oxi hóa bởi ánh sáng" của bia trong các hệ thống mô hình, bao gồm các isohumulon, riboflavin, và xystein, khi bị phơi ra ánh sáng nhìn thấy được, đã được Kuroiwa và các tác giả đề xuất vào năm 1963. Riboflavin bị kích thích bởi quang hóa gây ra sự phân cắt các isohumulon thành gốc 4-methylpent-3-enoyl, gốc này bị khử cacbonyl thành gốc 3-methylbut-2-enyl. Việc bẫy gốc allyl đã được làm ổn định này bằng gốc thiol được tạo ra từ xystein dẫn đến sự tạo thành 3-methylbut-2-ene-1-thiol (3-MBT), chính hợp chất này tạo ra hương vị "mùi cà phê tươi do bị oxi hóa bởi ánh sáng". 3-MBT có mức ngưỡng hương vị cực thấp khoảng 1 ppt hoặc thấp hơn.

Để xảy ra sự tạo thành 3-MBT trong bia bên cạnh các iso-alpha axit, phản ứng này đòi hỏi năng lượng ánh sáng nằm trong dải quang phổ từ 300 nm đến 550 nm, chất nhạy quang (ví dụ, riboflavin, tức là vitamin B2), và nguồn lưu huỳnh (ví dụ, axit amin chứa lưu huỳnh).

Việc xảy ra sự thoái biến của các iso-alpha axit do quang phân là do sự có mặt của mạch bên iso-3-hexenoyl trong các phân tử iso-alpha axit. Bằng cách biến đổi cấu trúc phân tử của các iso-alpha axit này, đặc biệt là bằng cách khử các liên kết C=C và/hoặc C=O trong mạch bên iso-3-hexenoyl, có thể ngăn ngừa đáng kể sự tạo thành 3-MBT trong bia.

Các chất dẫn xuất iso-alpha axit đã được khử có sẵn trên thị trường chứa các dihydro-, tetrahydro- và/hoặc hexahydro-iso-alpha axit, và thường được bổ sung vào sau giai đoạn lên men chính của quá trình nấu bia. Các dihydro-iso-alpha axit này (còn được gọi là các rho-iso-alpha axit) thu được bằng cách khử nhóm cacbonyl trong mạch iso-3-hexenoyl nêu trên thành nhóm hydroxyl, thường là bằng cách sử dụng chất khử là bohydro kim loại kiềm. Các tetrahydro-iso-alpha axit thu được bằng cách hydro hóa các liên kết C=C trong mạch bên iso-3-hexenoyl nêu trên và mạch bên isopentenyl. Các hexahydro-iso-alpha axit được tạo ra bằng cách kết hợp các quá trình khử và hydro hóa nêu trên.

Có nhu cầu về chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước bên với ánh sáng, tức là về cơ bản không góp phần tạo thành 3-MBT trong bia bị phơi sáng, nhưng chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước này không bị khử/hydro hóa về mặt hóa học.

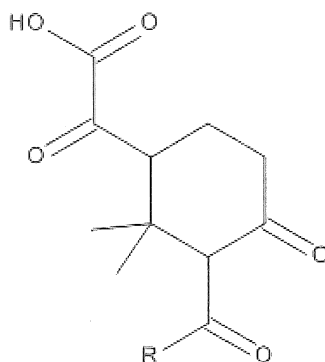
Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các tác giả sáng chế đã bất ngờ phát hiện rằng có thể cải thiện đáng kể độ bền với ánh sáng của các chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước bằng cách chiếu sáng các chiết phẩm hublông này bằng ánh sáng mặt trời. Mặc dù các tác giả sáng chế

không mong muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết, các tác giả tin rằng nhờ sự chiếu sáng này mà các iso-alpha axit này bị thoái biến giống với kiểu thoái biến do quang phân, được coi là nguyên nhân tạo thành 3-MBT trong bia. Tuy nhiên, khi không có mặt các chất phản ứng quan trọng (chẳng hạn như các hợp chất chứa thiol), các sản phẩm thoái biến trung gian hoạt động được tạo ra trong quá trình chiếu sáng đáng lẽ sẽ tham gia vào việc tạo thành 3-MBT, được chuyển hóa thành các sản phẩm phản ứng khác không ảnh hưởng bất lợi đến hương vị hoặc độ bền hương vị của bia.

Theo sáng chế, việc chiếu sáng chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước này cải thiện đáng kể độ bền với ánh sáng của chiết phẩm hublông này, nhưng bất ngờ là không có nhiều ảnh hưởng ngoài tác động hạn chế đến vị đắng và các đặc tính hương vị mong muốn của chiết phẩm hublông này.

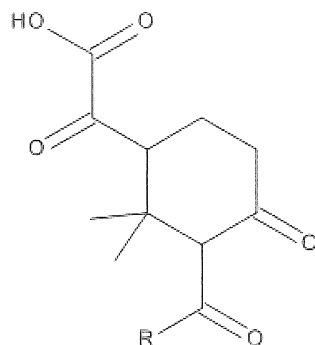
Các tác giả sáng chế còn phát hiện rằng trong quá trình chiếu sáng chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước, các lượng đáng kể các hợp chất từ hublông sau đây (bao gồm tất cả các chất đồng phân) được tạo ra:



trong đó $R = -CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ hoặc $-CH_2CH(CH_3)_2$.

Các hợp chất này xuất hiện trong các chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước thông thường với các lượng không lớn hơn các lượng vết. Tuy nhiên, trong các chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước được chiếu sáng theo sáng chế, các hợp chất này có mặt với các mức nồng độ đáng kể.

Một khía cạnh của sáng chế đề xuất chiết phẩm hublông bền với ánh sáng chứa một hoặc nhiều hợp chất từ hublông được biểu diễn bởi công thức (I) sau đây với lượng ít nhất là 1 g trên kg chất khô:



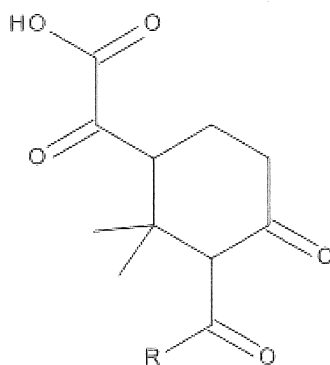
(I)

trong đó $R = -CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ hoặc $-CH_2CH(CH_3)_2$.

Khía cạnh khác của sáng chế đề xuất phương pháp điều chế chiết phẩm hublông bền với ánh sáng, phương pháp này bao gồm:

- tạo chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước chứa các iso-alpha axit với lượng ít nhất là 10% theo khối lượng chất khô, và
- chiếu sáng chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước này, tùy ý sau khi pha loãng chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước này.

Sáng chế cũng đề xuất bia chứa chiết phẩm hublông bền với ánh sáng, bia này chứa riboflavin với lượng ít nhất là 40 $\mu\text{g/l}$ và một hoặc nhiều hợp chất từ hublông được biểu diễn bởi công thức (I) sau đây với lượng ít nhất là 0,1 mg/l:



(I)

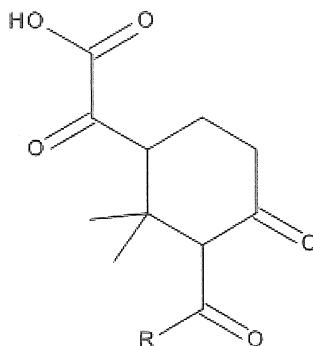
trong đó $R = -CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ hoặc $-CH_2CH(CH_3)_2$.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 đến Fig.4 thể hiện phổ khối của các hợp chất từ hublông.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo đó, khía cạnh thứ nhất của sáng chế liên quan đến chiết phẩm hublông bền với ánh sáng chứa một hoặc nhiều hợp chất từ hublông được biểu diễn bởi công thức (I) sau đây với lượng ít nhất là 1 g trên kg chất khô:



(I)

trong đó $R = -CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ hoặc $-CH_2CH(CH_3)_2$.

Thuật ngữ “các hợp chất từ hublông” được sử dụng ở đây, trừ khi được chỉ dẫn khác, đề cập đến các hợp chất oxyxyclohexyl được thể được biểu diễn bởi công thức (I) trên đây. Các hợp chất từ hublông nêu trên có thể xuất hiện dưới các dạng chất đồng phân khác nhau. Tất cả các dạng chất đồng phân khác nhau này, bao gồm cả các dạng chất hỗn biến và các dạng chất đồng phân lập thể được bao hàm trong định nghĩa về “các hợp chất từ hublông” nêu trên.

Thuật ngữ “các iso-alpha axit” được sử dụng ở đây đề cập đến các hợp chất được lựa chọn từ nhóm gồm có isohumulon, isoadhumulon, isocohumulon, pre-isohumulon, post-isohumulon và các hỗn hợp của các hợp chất này. Thuật ngữ “các iso-alpha axit” bao hàm các chất đồng phân lập thể khác nhau (các axit cis-iso-alpha và các axit trans-iso-alpha).

Thuật ngữ “các alpha axit” được sử dụng ở đây đề cập đến các hợp chất được lựa chọn từ nhóm gồm có humulon, adhumulon, cohumulon, prehumulon, posthumulon và các hỗn hợp của các hợp chất này.

Thuật ngữ “các beta axit” được sử dụng ở đây đề cập đến các hợp chất được lựa chọn từ nhóm gồm có lupulone, adlupulone, colupulone, prelupulone, và postlupulone và các hỗn hợp của các hợp chất này.

Thuật ngữ “các hợp chất từ isohumulon” được sử dụng ở đây đề cập đến các hợp chất từ hublông đã được định nghĩa trên đây, trong đó $R = -CH_2CH(CH_3)_2$.

Thuật ngữ “hợp chất từ isocohumulon” được sử dụng ở đây đề cập đến các hợp chất từ hublông đã được định nghĩa trên đây, trong đó $R = -CH(CH_3)_2$.

Thuật ngữ “bia” được sử dụng ở đây bao hàm cả bia có cồn và bia không cồn.

Nồng độ của các hợp chất từ hublông này trong chiết phẩm hublông hoặc trong bia có thể được xác định thích hợp bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ (Liquid Chromatography - Mass Spectrometry - LC-MS), bằng cách sử dụng phương pháp được mô tả trong bản mô tả này.

Chiết phẩm hublông bền với ánh sáng theo sáng chế thường chứa các hợp chất từ hublông này với nồng độ ít nhất là 3 g trên kg chất khô, ưu tiên với nồng độ ít nhất là 6 g trên kg chất khô và ưu tiên nhất với nồng độ ít nhất 10 g trên kg chất khô. Thông thường, chiết phẩm hublông này chứa các hợp chất từ hublông này với lượng không lớn hơn 350 g, ưu tiên không lớn hơn 250 g trên kg chất khô.

Theo phương án được ưu tiên của sáng chế, chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này chứa các lượng đáng kể của một hoặc nhiều hợp chất từ hublông theo công thức (I) trong đó $R = -CH(CH_3)_2$. Hợp chất từ hublông này được cho là có nguồn gốc từ isocohumulon và được gọi là hợp chất từ isocohumulon. Thông thường, chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này chứa hợp chất từ isocohumulon này với nồng độ ít nhất là 0,3 g trên kg chất khô, ưu tiên với nồng độ ít nhất là 1 g trên kg chất khô và ưu tiên nhất với nồng độ ít nhất 3 g trên kg chất khô.

Như được giải thích dưới đây, các tác giả sáng chế đã nhận dạng được hai hợp chất từ isocohumulon trong chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này theo sáng chế. Hai hợp chất từ isocohumulon này, được gọi là Co1 và Co2, được mô tả chi tiết hơn dưới đây. Thông thường, chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này chứa hợp chất từ isocohumulon Co2 này với nồng độ ít nhất 0,2 g trên kg chất khô, ưu tiên với nồng độ ít nhất 0,7 g trên kg chất khô và ưu tiên nhất với nồng độ ít nhất 2 g trên kg chất khô.

Theo một phương án được ưu tiên khác của sáng chế, chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này chứa các lượng đáng kể của một hoặc nhiều hợp chất từ hublông theo công thức (I) trong đó $R = -CH_2CH(CH_3)_2$. Hợp chất từ hublông này được cho là có nguồn gốc từ isohumulon và được gọi là hợp chất từ isohumulon. Thông thường, chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này chứa hợp chất từ isohumulon này với nồng độ ít nhất là 0,5 g trên kg chất khô, ưu tiên với nồng độ ít nhất là 2 g trên kg chất khô và ưu tiên nhất với nồng độ ít nhất là 5 g trên kg chất khô.

Chiết phẩm hublông bền với ánh sáng theo sáng chế thường chứa các iso-alpha axit với lượng ít nhất là 1%, ưu tiên ít nhất là 2% và ưu tiên nhất ít nhất là 3% theo khối lượng chất khô.

Theo một phương án được ưu tiên đặc biệt của sáng chế, chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này chứa các hợp chất từ hublông này với nồng độ ít nhất là 1%, ưu tiên ít nhất là 3%, ưu tiên hơn ít nhất là 5%, ưu tiên hơn nữa ít nhất là 10% và ưu tiên nhất ít nhất là 20% theo khối lượng của các iso-alpha axit có trong chiết phẩm này.

Thông thường, chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này chứa hợp chất từ isocohumulon này với nồng độ ít nhất là 0,3%, ưu tiên ít nhất là 3% và ưu tiên nhất ít nhất là 6% theo khối lượng của các iso-alpha axit có trong chiết phẩm này.

Ưu tiên, chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này chứa hợp chất từ isohumulon này với nồng độ ít nhất là 0,5%, tốt hơn nếu ít nhất là 5% và tốt nhất nếu ít nhất là 10% theo khối lượng của các iso-alpha axit có trong chiết phẩm này.

Các alpha axit thường có trong chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này với nồng độ nằm trong khoảng từ 0% đến 10%, ưu tiên nằm trong khoảng từ 0% đến 3% và ưu tiên nhất nằm trong khoảng từ 0,01 đến 2% theo khối lượng chất khô.

Chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này theo sáng chế thường chứa các beta axit với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 10% theo khối lượng chất khô, ưu tiên chứa các beta axit với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 5% theo khối lượng chất khô.

Ưu tiên lượng các iso-alpha axit khử (các axit dihydro-iso-alpha, các axit tetrahydro-iso-alpha và các axit hexahydro-iso-alpha) trong chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này không lớn hơn 10% theo khối lượng của các iso-alpha axit này. Ưu tiên hơn với lượng các iso-alpha axit khử không lớn hơn 3% theo khối lượng của các iso-alpha axit này.

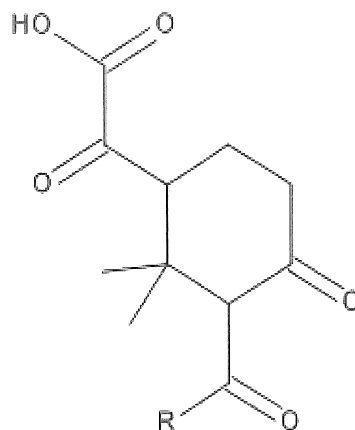
Chiết phẩm hublông bền với ánh sáng theo sáng chế thường chứa các hợp chất từ hublông này với lượng ít nhất là 20 mg/l. Ưu tiên, chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này chứa các hợp chất từ hublông này với lượng ít nhất là 80 mg/l, ưu tiên nhất ít nhất là 150 mg/l các hợp chất từ hublông này.

Ưu tiên chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này là chiết phẩm hublông đã được tách ra từ hublông bằng phương pháp chiết với cacbon đioxit lỏng hoặc siêu tới hạn.

Ưu tiên chiết phẩm hublông bền với ánh sáng theo sáng chế là chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước, ưu tiên hơn chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước chứa các iso-alpha axit và các alpha axit với tỷ lệ theo khối lượng lớn hơn 10:1, ưu tiên nhất với tỷ lệ theo khối lượng lớn hơn 20:1.

Ưu tiên chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này có hàm lượng nước ít nhất là 30 % theo khối lượng, ưu tiên hơn hàm lượng nước ít nhất là 50 % theo khối lượng và ưu tiên nhất ít nhất là 70 % theo khối lượng.

Khía cạnh khác của sáng chế liên quan đến bia chứa chiết phẩm hublông bền với ánh sáng, bia này chứa riboflavin với lượng ít nhất là 40 µg/l và một hoặc nhiều hợp chất từ hublông được biểu diễn bởi công thức (I) sau đây với lượng ít nhất là 0,1 mg/l:



(I)

trong đó $R = -CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ hoặc $-CH_2CH(CH_3)_2$.

Như được trình bày trên đây, riboflavin giữ vai trò quan trọng trong sự tạo thành 3-MBT do ánh sáng gây ra trong bia. Riboflavin có mặt một cách tự nhiên trong bia và bị quang phân cực nhanh. Thực tế là, trong bia thông thường, riboflavin bị quang phân nhanh hơn rất nhiều so với các iso-alpha axit. Do đó, hàm lượng riboflavin trong bia bị chiếu ánh sáng (light - struck beer) thường bị giảm còn chỉ một phần của hàm lượng ban đầu ngay trước khi phân đắng kể các iso-alpha axit này bị quang phân.

Bia bền với ánh sáng theo sáng chế khác với bia thông thường ở chỗ bia theo sáng chế chứa một hoặc nhiều hợp chất từ hublông nêu trên với lượng ít nhất là 0,1 mg/l. Bia bền với ánh sáng này khác với bia bị chiếu ánh sáng (light - struck beer) ở chỗ bia bền với ánh sáng này đồng thời chứa các hợp chất từ hublông này với lượng ít nhất là 0,1 mg/l và riboflavin với lượng ít nhất là 40 µg/l.

Bia theo sáng chế thường chứa một hoặc nhiều hợp chất từ hublông với lượng ít nhất là 0,2 mg/l, ưu tiên ít nhất là 0,4 mg/l, và ưu tiên hơn ít nhất là 1 mg/l. Thông thường nồng độ của một hoặc nhiều hợp chất hublông đã được quang phân trong bia không lớn hơn 50 mg/l. Ưu tiên nồng độ này không lớn hơn 40 mg/l, ưu tiên hơn nồng độ này không lớn hơn 30 mg/l và ưu tiên nhất nồng độ này không lớn hơn 20 mg/l.

Ưu tiên bia bền với ánh sáng này chứa hợp chất từ isocohumulon này với lượng ít nhất là 0,03 mg/l, tốt hơn nếu ít nhất là 0,1 mg/l và tốt nhất nếu ít nhất là 0,3 mg/l.

Ưu tiên hợp chất từ isocohumulon Co2 có trong bia bền với ánh sáng với nồng độ ít nhất là 0,02 mg/l, tốt hơn nếu ít nhất là 0,07 mg/l và tốt nhất nếu ít nhất là 0,2 mg/l.

Ưu tiên bia bền với ánh sáng chứa hợp chất từ isohumulon này với nồng độ ít nhất là 0,05 mg/l, tốt hơn nếu ít nhất là 0,2 mg/l và tốt nhất nếu ít nhất là 0,5 mg/l.

Ưu tiên hàm lượng riboflavin của bia bền với ánh sáng ít nhất là 60 µg/l. Ưu tiên nhất, hàm lượng riboflavin này nằm trong khoảng từ 80 µg/l đến 2 000 µg/l.

Theo phương án được ưu tiên đặc biệt, một hoặc nhiều hợp chất từ hublông này và riboflavin có mặt trong bia bền với ánh sáng với tỷ lệ theo khối lượng không lớn hơn 200:1, ưu tiên với tỷ lệ theo khối lượng nằm trong khoảng từ 1:1 đến 100:1 và ưu tiên nhất nằm trong khoảng từ 2:1 đến 50:1.

Bia bền với ánh sáng thường chứa hợp chất từ isocohumulon này và riboflavin với tỷ lệ theo khối lượng không lớn hơn 100:1, ưu tiên với tỷ lệ theo khối lượng nằm trong khoảng từ 1:2 đến 50:1, ưu tiên nhất từ 1:1 đến 40:1.

Bia bền với ánh sáng thường chứa hợp chất từ isohumulon này và riboflavin với tỷ lệ theo khối lượng không lớn hơn 160:1, ưu tiên với tỷ lệ theo khối lượng nằm trong khoảng từ 1:1 đến 80:1, ưu tiên nhất từ 2:1 đến 60:1.

Bia bền với ánh sáng theo sáng chế thường chứa các iso-alpha axit với lượng ít nhất là 0,1 mg/l, ưu tiên ít nhất là 0,3 mg/l, ưu tiên hơn ít nhất là 0,6 mg/l và ưu tiên nhất ít nhất là 1 mg/l. Thông thường, mức của các iso-alpha axit trong bia sẽ không lớn hơn 30 mg/l.

Ưu tiên một hoặc nhiều hợp chất từ hublông có trong bia bền với ánh sáng với nồng độ ít nhất là 1%, tốt hơn nếu ít nhất là 3%, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 5% và tốt nhất nếu ít nhất là 10% theo khối lượng của các iso-alpha axit cũng có trong bia này.

Bia bền với ánh sáng theo sáng chế thường chứa 3-metyl-2-buten-1-thiol (3-MBT) với lượng nhỏ hơn 100 ng/l. Tốt hơn nếu hàm lượng 3-MBT này nhỏ hơn 50 ng/l, tốt nhất nếu nhỏ hơn 30 ng/l. Nồng độ của 3-MBT có thể được xác định thích hợp bằng phương pháp đã được mô tả bởi Hughes và các tác giả (Hughes P. S., Burke S. và Meacham A. E. (1997) "Aspects of the lighstruck character of beer". Institute of Brewing, Proceedings of the 6th Central and South Africa Section, các trang từ 123 đến 128).

Khía cạnh khác của sáng chế liên quan đến quy trình sản xuất bia được xác định trên đây, quy trình này bao gồm việc cho chiết phẩm hublông bền với ánh sáng được xác định trên đây vào.

Ưu tiên chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này được bổ sung vào dịch nha hoặc bia trước khi làm trong, tức là trước khi loại bỏ các chất rắn bị cuốn theo và nấm men ra khỏi bia đã được lên men. Thông thường, thực hiện làm trong bia đã được lên men bằng phương tiện lọc.

Trong quy trình nêu trên, ưu tiên chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này được cho vào dịch nha hoặc bia với nồng độ ít nhất là 2 mg/l, tốt hơn nếu với nồng độ nằm trong khoảng từ 5 mg/l đến 200 mg/l, tốt nhất nếu với nồng độ nằm trong khoảng từ 10 mg/l đến 150 mg/l.

Sau khi bổ sung chiết phẩm hublông bền với ánh sáng này vào dịch nha, dịch nha này được đưa vào các bước xử lý tiếp theo, bao gồm:

- lên men dịch nha này với sự trợ giúp của nấm men bia;
- làm trong bia đã được lên men; và
- đóng gói.

Cuối cùng, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế chiết phẩm hublông bền với ánh sáng, phương pháp này bao gồm:

- tạo chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước chứa các iso-alpha axit với lượng ít nhất là 10%, ưu tiên ít nhất là 20% và ưu tiên nhất ít nhất là 40% theo khối lượng chất khô,
- chiếu sáng chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước này, tùy ý sau khi pha loãng chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước này, để thu được chiết phẩm hublông bền với ánh sáng như đã được xác định trên đây.

Theo phương án được ưu tiên đặc biệt, chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước này được chiếu sáng bằng ánh sáng có cường độ tối đa ở bước sóng nằm trong khoảng từ 200 nm đến 800 nm, ưu tiên nằm trong khoảng từ 250 nm đến 600 nm, ưu tiên nhất nằm trong khoảng từ 300 nm đến 500 nm.

Ưu tiên cường độ chiếu sáng được sử dụng trong quy trình theo sáng chế lớn hơn 50 W/m². Tốt hơn nếu cường độ chiếu sáng này lớn hơn 100 W/m², tốt nhất nếu cường độ chiếu sáng này lớn hơn 200 W/m².

Chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước này thường được chiếu sáng với cường độ chiếu sáng nêu trên trong thời gian ít nhất là 30 phút, ưu tiên ít nhất là 1 giờ và ưu tiên nhất trong khoảng thời gian từ 2 giờ đến 48 giờ.

Trong quá trình chiếu sáng, nhiệt độ của chiết phẩm hublông này thường duy trì trong khoảng từ 0°C đến 100°C, ưu tiên từ 15°C đến 80°C.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện thấy rằng có thể thu được các kết quả đặc biệt tốt nếu chiếu sáng chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước này sau khi được pha loãng với nước. Theo đó, theo một phương án được ưu tiên đặc biệt, phương pháp theo sáng chế bao gồm các bước:

- pha loãng chiết phẩm đã được đồng phân hóa trước với nước để tạo ra dung dịch nước; và
- chiếu sáng dung dịch nước chứa chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước này.

Dung dịch nước đã được pha loãng chứa chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước này thường có hàm lượng iso-alpha axit nằm trong khoảng từ 0,2 g/l đến 200

g/l, ưu tiên nằm trong khoảng từ 0,5 g/l đến 70 g/l và ưu tiên nhất nằm trong khoảng từ 1 g/l đến 25 g/l khi bắt đầu chiếu sáng.

Dung dịch nước đã được pha loãng chứa chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước này thường chứa nước với lượng ít nhất là 80 % theo khối lượng. Tốt hơn nếu dung dịch pha loãng này chứa nước với lượng ít nhất là 90 % theo khối lượng. Tốt nhất nếu chứa nước với lượng ít nhất là 95 % theo khối lượng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

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

Phương pháp xác định nồng độ của các hợp chất từ hublông

Các nồng độ của bốn hợp chất từ hublông khác nhau được biểu diễn bởi công thức (I) có thể được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao - khối phổ (Ultra Performance Liquid Chromatography - Mass Spectra - UPLC-MS) bằng cách sử dụng quy trình được mô tả dưới đây. Bốn hợp chất từ hublông này bao gồm hai hợp chất từ isocohumulon (được gọi là Co1 và Co2) và hai hợp chất từ isohumulon (được gọi là N1 và N2). Các thời gian lưu thông thường của các hợp chất này trong phương pháp UPLC-MS được mô tả dưới đây được liệt kê như sau.

Hợp chất	Thời gian lưu (phút)
Co1	6,87
Co2	7,99
N1	9,08
N2	9,99

Phổ khối của các hợp chất từ hublông này được thể hiện trong các hình vẽ từ Fig.1 đến Fig.4.

Nồng độ của mỗi hợp chất từ hublông được xác định trên cơ sở các đường cong hiệu chỉnh đối với mỗi hợp chất trong các hợp chất từ hublông này. Các hợp chất từ hublông này có thể được tách ra dưới dạng có độ tinh khiết cao từ chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước đã được chiếu sáng bằng phương pháp UPLC điều chế.

Các đường cong hiệu chỉnh đối với các hợp chất từ hublông này được xác định bằng cách sử dụng các điều kiện của đầu dò được mô tả dưới đây.

Thiết bị, các chất và các điều kiện được mô tả dưới đây có thể được sử dụng để xác định các nồng độ của các hợp chất từ hublông nêu trên.

Thiết bị:

Hệ thống UPLC: Acquity UPLC (của hãng Waters) được trang bị cột BEH C18 (1,7 μ m, 2,1 mm x 150 mm; Mã số sản phẩm của Waters: 186002353)

Đầu dò: khối phổ kế XEVO TQ-S (của hãng Waters)

Các hóa chất:

Nước siêu tinh khiết Milli-Q® (Ultrapure Water)

Axetonitril $\geq 99,9\%$ (JT-Baker: 9853-02)

Axit formic $\geq 98\%$ (Mã số sản phẩm của Sigma-Aldrich: 33015)

Các điều kiện của các dụng cụ UPLC:

Nhiệt độ cột: 60 °C

Thể tích bơm: 1 μ L

Nhiệt độ mẫu: 10 °C

Thời gian chạy: 25 phút

Chất rửa giải A = 1000 mL nước siêu tinh khiết (Ultrapure water) + 1 mL axit formic

Chất rửa giải B = 1000 mL Axetonitril + 1 mL axit formic

Gradient:

Thời gian (phút)	Lưu lượng (mL/min)	%A	%B
0,0	0,25	95	5
10	0,25	59	41
11	0,25	95	5
25	0,25	95	5

Các điều kiện của đầu dò:

Phương pháp phân tích được thiết lập ở chế độ quét âm tính (ES-) và các chế độ giám sát đa phản ứng (Multiple Reaction Monitoring - MRM).

Các cài đặt MS:

Cực tính	ES-
Cột mao quản (kV)	2,5
Nhiệt độ nguồn (°C)	150
Nhiệt độ khí bay hơi (°C)	600
Dòng khí phun hình nón (L/Hr)	150
Dòng khí bay hơi (L/Hr)	1000
Dòng khí xung đột (mL/min)	0,22

Các chế độ giám sát đa phản ứng (MRM):

	Cha mẹ (m/z)	Con (m/z)	Coll (eV)
Co1 và Co2	267	195	20
N1 và N2	281	209	20

Các mẫu thử được khử khí trước khi phân tích.

Phương pháp xác định nồng độ của riboflavin

Nồng độ của riboflavin trong bia có thể được xác định bằng phương pháp UPLC-FLR (Ultra Performance Liquid Chromatography - Fluorescence) sử dụng thiết bị, các chất và các điều kiện được mô tả dưới đây.

Thiết bị:

Hệ thống UPLC: Acquity UPLC (của hãng Waters) được trang bị cột BEH C18 (1,7 μ m, 2,1 mm x 150 mm; mã số sản phẩm của Waters: 186002353)

Đầu dò: Đầu dò Acquity Fluorescence (FLR) (của hãng Waters)

Các hóa chất:

Nước siêu tinh khiết (Ultrapure Water) Milli-Q®

Axetonitril $\geq 99,9\%$ (Mã số sản phẩm của Sigma Aldrich: 34998)

Axit phosphoric $\geq 85,0\%$ (Mã số sản phẩm của Sigma Aldrich: 30417)

Riboflavin (Mã số sản phẩm của Sigma Aldrich: R-7649)

Natri dihydro phosphat monohydrat (mã số sản phẩm của Merck: 106346)

Dung dịch đệm pH 2,7 (7,5 g natri dihydro phosphat monohydrat trong 200 mL nước siêu tinh khiết (Ultrapure water) + 1 mL axit phosphoric trong 1000 mL nước siêu sạch (Ultrapure water))

Các điều kiện của dụng cụ UPLC:

Nhiệt độ cột: 40 °C

Thể tích bơm: 10 μ L

Nhiệt độ mẫu: 10 °C

Thời gian chạy: 15 phút

Các chất rửa giải A = dung dịch đệm pH 2,7

Các chất rửa giải B = Axetonitril

Gradient:

Thời gian (phút)	Lưu lượng (mL/min)	%A	%B
0,00	0,20	95	5
10,0	0,20	95	5
10,5	0,20	15	85
12,0	0,20	15	85
12,2	0,20	95	5
15,0	0,20	95	5

Các điều kiện của đầu dò:

$$\lambda_{\text{ex}} = 444 \text{ nm}$$

$$\lambda_{\text{em}} = 525 \text{ nm}$$

Các mẫu thử được khử khí trước khi phân tích.

Ví dụ 1

Chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước (được gọi là ‘Isohop’ của hãng Barth-Haas Group) được sử dụng làm nguyên liệu ban đầu. Chiết phẩm hublông này có các tính chất sau (dựa theo tờ mô tả sản phẩm của Barth-Haas Group):

- chứa các iso-alpha axit với lượng là $30 \pm 0,5$ % theo khối lượng
- chứa các alpha axit với lượng $< 0,7\%$
- chứa các beta axit với lượng $< 0,3\%$

Chiết phẩm hublông đã được đồng phân hóa trước này được pha loãng với ‘Nước siêu sạch (Ultrapure Water) Milli-Q®’ (theo tỷ lệ 1:50 theo khối lượng). Cho 16 mL chiết phẩm hublông đã được pha loãng này vào ống thủy tinh có nắp vặn ren (thủy tinh Duran, đường kính ống là 16 mm, chiều dài ống là 160 mm). Chiếu sáng đồng thời 30 ống thủy tinh này trong thời gian 32 giờ trong thiết bị Suntest XLS+ (của hãng ATLAS), sử dụng đèn Xenon. Trong quá trình chiếu sáng, có thể áp dụng các điều kiện sau đây:

- Công suất của đèn Xenon là 1700 W
- Các ống được đặt nằm ngang trong thiết bị Suntest XLS+
- Khoảng cách giữa các ống thủy tinh và đèn là 25 cm
- Lượng chiếu xạ ở mức mẫu thử được đặt ở 765 W/m^2
- Nhiệt độ của chiết phẩm hublông đã được pha loãng tăng từ nhiệt độ môi trường đến khoảng 50°C (không cố ý làm lạnh hoặc gia nhiệt trong quá trình chiếu sáng)

Trước và sau khi chiếu sáng, các nồng độ của các iso-alpha axit và các hợp chất từ hublông trong chiết phẩm hublông này đã được xác định. Việc xác định các iso-alpha axit trong chiết phẩm hublông này được thực hiện theo phương pháp được mô tả bởi Hội nghị các nhà sản xuất bia Châu Âu (European Brewery Convention - EBC) năm 2005: "Method 7.8: Iso-alpha-, alpha- và beta-acids in hops, hops powder products and hops extracts (HPLC method)". Việc xác định nồng độ của các hợp chất từ hublông trong chiết phẩm này đã được thực hiện theo phương pháp được mô tả trên đây. Các kết quả của các phân tích này được thể hiện trong Bảng 2:

Bảng 2

	Các iso-alpha axit (mg/L)	Các hợp chất từ hublông				
		Co1 (mg/L)	Co2 (mg/L)	N1 (mg/L)	N2 (mg/L)	Tổng (mg/L)
Chiết phẩm hublông	5808	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Chiết phẩm hublông bền với ánh sáng	339	65	264	174	372	875

Ví dụ 2

Bổ sung các chiết phẩm hublông đã được chiếu sáng và không được chiếu sáng trong Ví dụ 1 vào bia chưa được cho hublông (300 mL bia chưa được cho hublông trong chai màu xanh lá cây). Chuẩn bị bia thứ nhất (bia tham chiếu) bằng cách bổ sung 20 mg/L chiết phẩm hublông không được chiếu sáng. Chuẩn bị bia thứ hai (bia bền với ánh sáng) bằng cách bổ sung 60 mg/L chiết phẩm hublông đã được chiếu sáng. Sử dụng chiết phẩm hublông đã được chiếu sáng này với nồng độ cao hơn để bù cho sự hao hụt cường độ đắng xảy ra do sự chiếu sáng. Profin hương vị của bia chứa chiết phẩm hublông đã được chiếu sáng này rất giống với profin hương vị của bia chứa chiết phẩm hublông không được chiếu sáng này.

Cả hai loại bia được phơi trong ánh sáng nhân tạo bằng cách đặt các chai nằm ngang trong thiết bị Suntest XLS+ và chiếu sáng các chai này trong thời gian 24 giờ. Trong quá trình chiếu sáng, áp dụng các điều kiện giống như trong Ví dụ 1.

Trước và trong quá trình chiếu ánh sáng nhân tạo, các nồng độ của các hợp chất sau đây được xác định trong cả hai loại bia:

- các hợp chất từ hublông có công thức (I),
- các iso-alpha axit,
- riboflavin, và
- 3-MBT.

Thực hiện việc xác định các iso-alpha axit trong bia theo phương pháp được mô tả bởi Hiệp hội các nhà hóa học bia Hoa Kỳ (American Society of Brewing Chemists - ASBC) năm 2009 (Methods of Analysis, Xuất bản lần thứ 14): "Method Beer 23 (phần E: Các iso-alpha axit trong bia bởi HPLC)". Hàm lượng 3-MBT này được xác định bằng cách sử dụng phương pháp được mô tả bởi Hughes và các tác giả ("Aspects of the lightstruck character of beer". Institute of Brewing, Proceedings of the 6th Central and South Africa Section (1997), các trang từ 123 đến 128). Việc xác định nồng độ của các hợp chất từ hublông và riboflavin trong bia được thực hiện theo các phương pháp được mô tả trên đây.

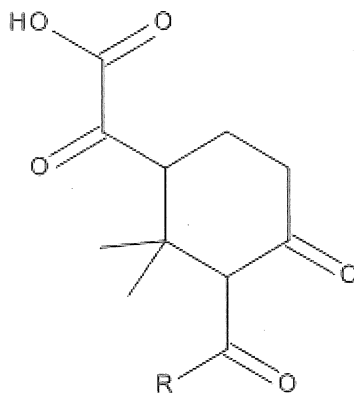
Các kết quả của các phân tích này được tóm tắt trong Bảng 3:

Bảng 3

	Các iso-alpha axit (mg/L)	Các hợp chất từ hublông					Riboflavin (µg/L)	MBT (ng/L)
		Co1 (mg/L)	Co2 (mg/L)	N1 (mg/L)	N2 (mg/L)	Sum (mg/L)		
Bia tham chiếu								
Chiếu sáng 0h	19,2	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	318	7
Chiếu sáng 2h	18,8	0,01	0,02	0,03	0,04	0,11	16	309
Chiếu sáng 6h	17,8	0,05	0,08	0,11	0,15	0,39	2,8	660
Chiếu sáng 24h	16,0	0,19	0,28	0,42	0,54	1,42	0,3	2072
Bia bền với ánh sáng								
Chiếu sáng 0h	4,5	0,53	2,32	1,65	3,54	8,04	313	8
Chiếu sáng 2h	4,4	0,56	2,29	1,66	3,45	7,95	15	74
Chiếu sáng 6h	4,2	0,61	2,20	1,77	3,29	7,87	2,0	137
Chiếu sáng 24h	3,6	0,86	2,19	2,18	3,18	8,41	0,4	506

YÊU CẦU BẢO HỘ

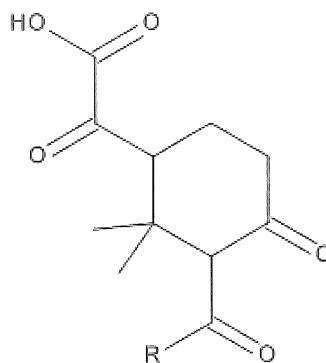
1. Bia chứa chiết phẩm hublông bền với ánh sáng, bia này chứa riboflavin với lượng ít nhất là 40 $\mu\text{g/l}$ và một hoặc nhiều hợp chất từ hublông được biểu diễn bởi công thức (I) với lượng ít nhất là 0,1 mg/l:



(I)

trong đó R = $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ hoặc $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$.

2. Bia theo điểm 1, trong đó bia này chứa một hoặc nhiều hợp chất từ hublông với lượng ít nhất là 0,2 mg/l, ưu tiên ít nhất là 0,4 mg/l, ưu tiên hơn ít nhất là 1 mg/l.
3. Bia theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó bia này chứa một hoặc nhiều hợp chất từ hublông với lượng không lớn hơn 50 mg/l, ưu tiên không lớn hơn 40 mg/l, ưu tiên hơn nữa không lớn hơn 30 mg/l.
4. Bia theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó bia này chứa riboflavin với lượng ít nhất là 60 $\mu\text{g/l}$, ưu tiên nằm trong khoảng từ 80 $\mu\text{g/l}$ đến 2000 $\mu\text{g/l}$.
5. Bia theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó một hoặc nhiều hợp chất từ hublông và riboflavin có mặt với tỷ lệ khối lượng không lớn hơn 200:1, ưu tiên với tỷ lệ theo khối lượng nằm trong khoảng từ 1:1 đến 100:1.
6. Bia theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó bia này chứa các iso-alpha axit với lượng ít nhất là 0,1 mg/l, ưu tiên ít nhất là 0,3 mg/l, ưu tiên hơn nữa ít nhất là 0,6 mg/l.
7. Bia theo điểm 6, trong đó bia này chứa các hợp chất từ hublông này với lượng ít nhất là 1%, ưu tiên ít nhất là 3% và ưu tiên nhất ít nhất là 5% theo khối lượng của các iso-alpha axit.
8. Chiết phẩm hublông bền với ánh sáng chứa một hoặc nhiều hợp chất từ hublông được biểu diễn bởi công thức (I) sau đây với lượng ít nhất là 1 g trên kg chất khô:

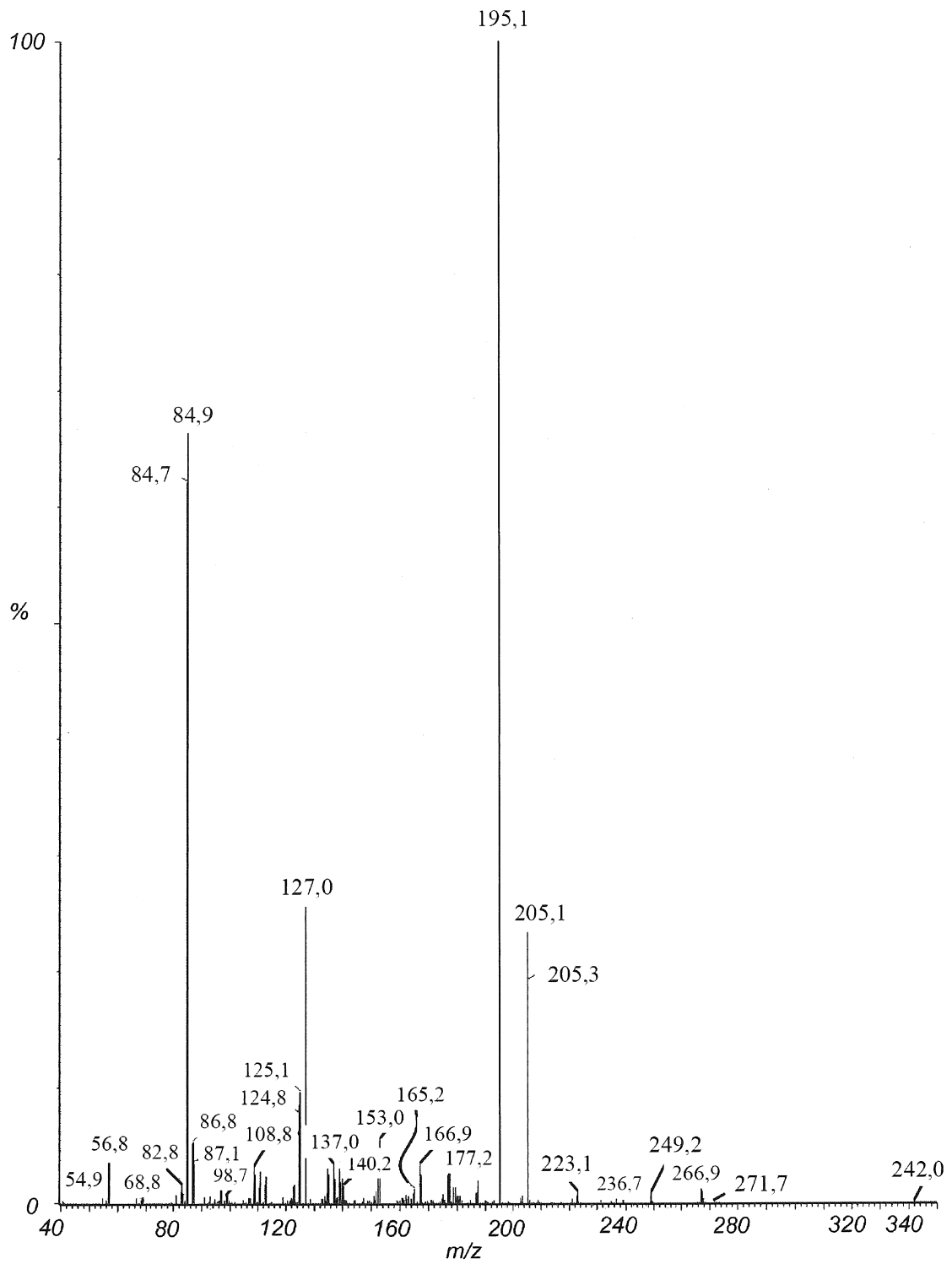


(I)

trong đó R = $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ hoặc $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$.

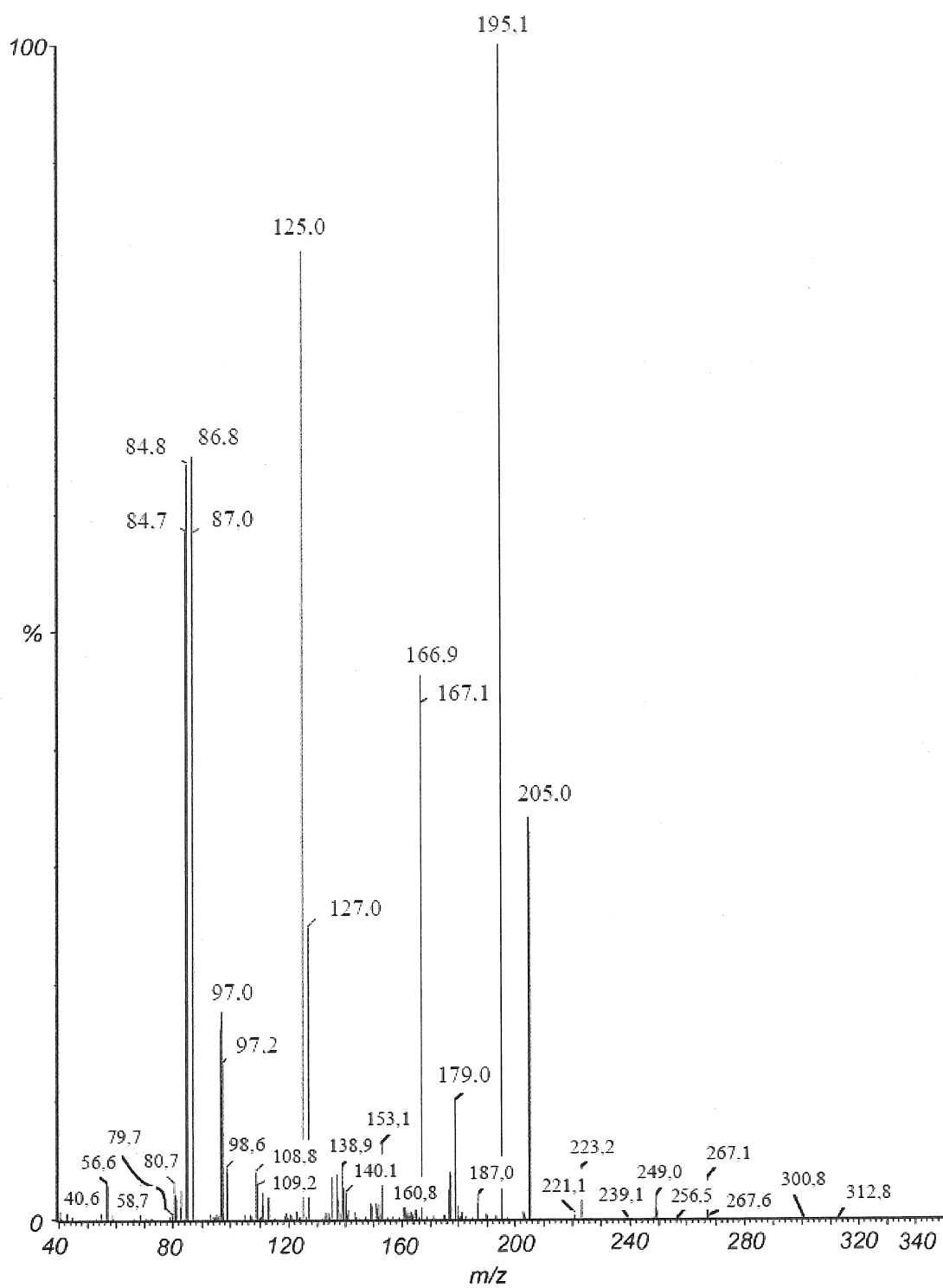
9. Chiết phẩm hublông theo điểm 8, trong đó chiết phẩm hublông này chứa một hoặc nhiều hợp chất từ hublông với nồng độ ít nhất là 3 g trên kg chất khô, ưu tiên với nồng độ ít nhất là 6 g trên kg chất khô và ưu tiên hơn nữa ít nhất là 10 g trên kg chất khô.
10. Chiết phẩm hublông theo điểm 8 hoặc điểm 9, trong đó chiết phẩm hublông này chứa một hoặc nhiều hợp chất từ hublông với lượng ít nhất là 1%, ưu tiên ít nhất là 3% và ưu tiên nhất ít nhất là 5% theo khối lượng của các iso-alpha axit này.
11. Chiết phẩm hublông theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 8 đến 10, trong đó chiết phẩm hublông này chứa các iso-alpha axit với lượng ít nhất là 1% theo khối lượng chất khô.
12. Chiết phẩm hublông theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 8 đến 11, trong đó chiết phẩm hublông này chứa các alpha axit với nồng độ nằm trong khoảng từ 0% đến 10% theo khối lượng chất khô, ưu tiên nằm trong khoảng từ 0% đến 3% theo khối lượng chất khô và ưu tiên hơn nữa nằm trong khoảng từ 0,01% đến 2% theo khối lượng chất khô.
13. Chiết phẩm hublông theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 8 đến 12, trong đó chiết phẩm hublông này chứa các beta axit với nồng độ nằm trong khoảng từ 0% đến 10% theo khối lượng chất khô, ưu tiên nằm trong khoảng từ 0% đến 5% theo khối lượng chất khô.
14. Chiết phẩm hublông theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 8 đến 13, trong đó chiết phẩm hublông này chứa các iso-alpha axit khử với nồng độ không lớn hơn 10% theo khối lượng của các iso-alpha axit, ưu tiên không lớn hơn 3% theo khối lượng của các iso-alpha axit; các iso-alpha axit khử này được lựa chọn từ các axit dihydro-iso-alpha, các axit tetrahydro-iso-alpha, các axit hexahydro-iso-alpha và các hỗn hợp của các hợp chất này.
15. Quy trình sản xuất bia, trong đó quy trình này bao gồm việc cho chiết phẩm hublông theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 8 đến 14 vào.

1/4

Fig. 1

2/4

Fig. 2



3/4

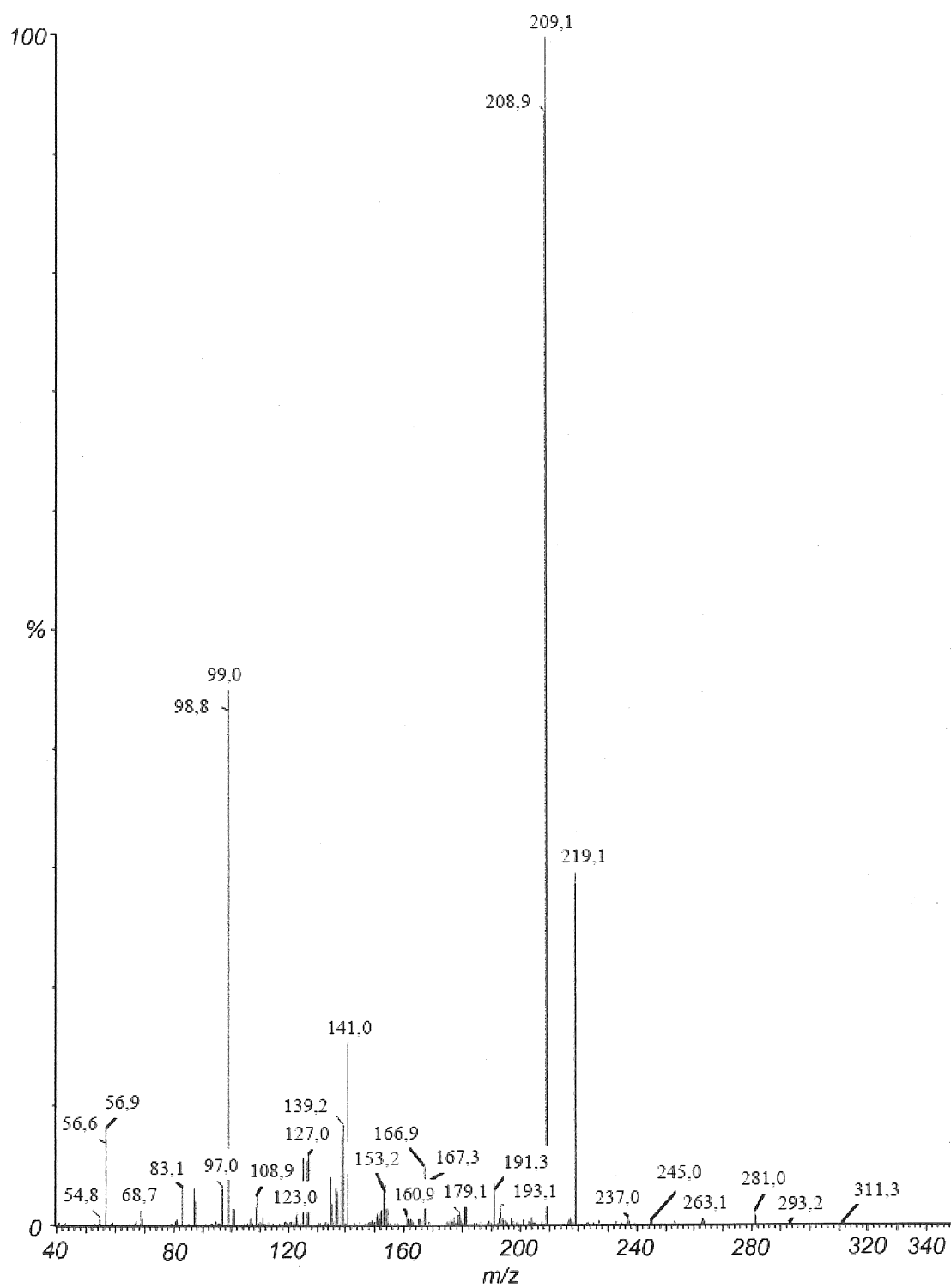
Fig. 3

Fig. 4

