



(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)



1-0035953

(51)⁷ C12C 1/027; C12C 7/047; C12C 1/047; (13) B
C12C 1/02

(21) 1-2019-00020

(22) 23/06/2017

(86) PCT/EP2017/065498 23/06/2017

(87) WO 2018/001882 A1 04/01/2018

(30) 16177402.1 01/07/2016 EP

(45) 26/06/2023 423

(43) 27/05/2019 374A

(73) Carlsberg Breweries A/S (DK)

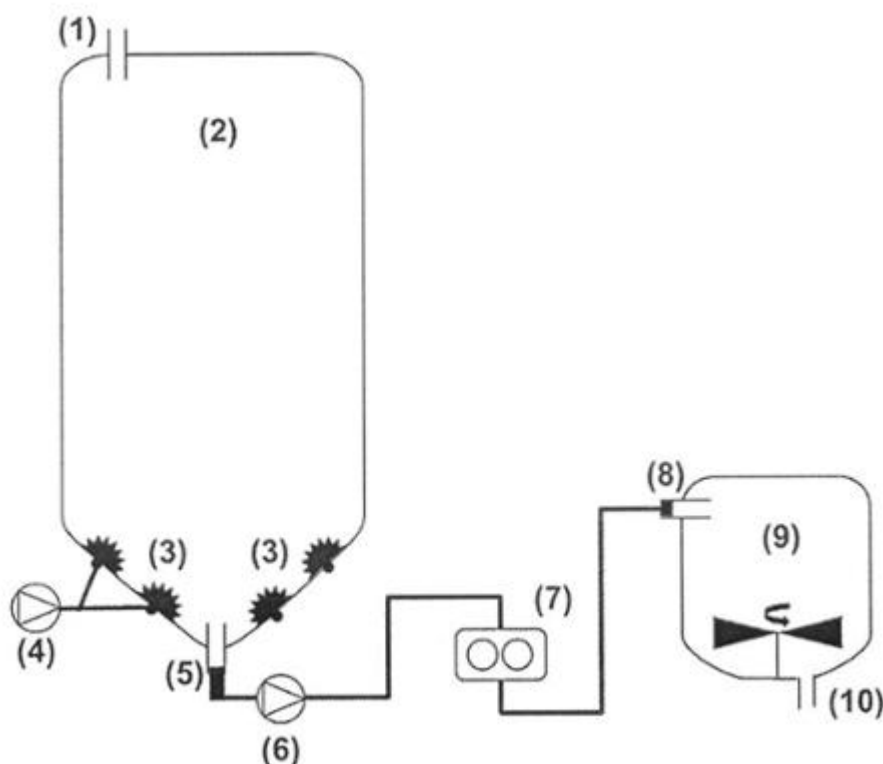
J.C. Jacobsens Gade 1, 1799 Copenhagen V, Denmark

(72) SKADHAUGE, Birgitte (DK); LOK, Finn (DK); KNUDSEN, Søren (DK); WENDT, Toni (DE); KRUCEWICZ, Katarzyna (PL); MARRI, Lucia (IT); OLSEN, Ole (DK).

(74) Công ty TNHH Quốc tế D & N (D&N INTERNATIONAL CO.,LTD.)

(54) PHƯƠNG PHÁP TẠO RA NƯỚC CHIẾT NGŨ CỐC VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT ĐỒ UỐNG

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp tạo ra nước chiết ngũ cốc để sản xuất các loại đồ uống được chế biến từ ngũ cốc. Cụ thể, sáng chế đề cập đến, ví dụ, phương pháp để ngâm và nảy mầm hạt ngũ cốc trong điều kiện có sục khí. Sáng chế cũng đề cập đến việc nghiền ướt các hạt ngũ cốc đã nảy mầm và chuyển trực tiếp các hạt đã nảy mầm này, mà không sấy khô, đến nhà máy sản xuất bia để xử lý tiếp. So với các phương pháp hiện có, phương pháp theo sáng chế làm giảm đáng kể lượng nước, năng lượng tiêu thụ và làm giảm nhu cầu vận chuyển.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập chung đến việc nảy mầm và tạo ra nước chiết ngũ cốc (ví dụ, được tạo ra thông qua việc ngâm ủ), bao gồm các quy trình được dùng để sản xuất bia. Theo đó, sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất bia từ hạt lúa mạch sử dụng lượng nguyên liệu đầu vào thấp, nhanh chóng và liên tục. Quy trình này có thể được thực hiện trong một thiết bị. Sáng chế cũng có khả năng áp dụng cho việc nảy mầm và tạo ra nước chiết từ các hạt ngũ cốc khác - bao gồm gạo, cao lương, ngô, kê, và lúa mỳ - cũng như các quy trình nấu bia có sử dụng các nguyên liệu phụ.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Trong các quy trình sản xuất mạch nha thương mại, các hạt lúa mạch được nảy mầm, hoặc tạo mạch nha, trong các điều kiện có kiểm soát mà cho phép huy động một phần các nguồn dự trữ tinh bột và protein của nội nhũ chứa tinh bột trong khoảng thời gian từ 4 đến 6 ngày. Quy trình tạo mạch nha này thường được bắt đầu bằng cách nhúng chìm hạt lúa mạch khô trong nước. Quy trình này được biết là ngâm khi mục đích của nó không chỉ làm sạch các hạt mà còn làm tăng hàm lượng ẩm của các hạt này lên khoảng 40% (trọng lượng/trọng lượng) sao cho bước huy động trong nội nhũ diễn ra sau đó sẽ xảy ra nhanh hơn. Trong khi ngâm, nước được tháo ra một lần để cho phép hạt tái trao đổi khí. Bước này được biết đến là “để yên trong không khí” và được coi là cần thiết, chủ yếu là do các hạt đã nhúng chìm trở nên thiếu oxy sau khoảng 16 giờ. Sau “để yên trong không khí” khoảng 8 giờ, các hạt này được nhúng chìm lại trong nước để kết thúc bước xử lý ngâm trong khoảng thời gian 8 giờ nữa - hoặc theo một loạt bước ngâm lại. Quy trình ngâm hai bước để làm tăng hàm lượng ẩm trong các hạt khô này lên đến 40%, hoặc cao hơn, toàn bộ kéo dài khoảng 32 giờ. Ở một số nhà máy sản xuất mạch nha, kỹ thuật ngâm phun được sử dụng.

Các hạt đã ngâm được trải ra để nảy mầm, trong thời gian đó các enzym được các hạt aleuron và các tế bào biểu mô lá mầm tiết ra - cùng với một số enzym đã tồn tại sẵn trong các tế bào nội nhũ chứa tinh bột - sẽ phân cắt thành tế bào, tinh bột và protein. Trong điều kiện nảy mầm bình thường, một hormon thực vật mà được gọi là axit gibberelic

đã tồn tại sẵn trong các tế bào nội nhũ chứa tinh bột sẽ phân cắt thành tế bào, tinh bột và protein. Trong điều kiện nảy mầm bình thường, một hormone thực vật đó là axit gibberelic (gibberelic acid - GA) được tin là được tổng hợp trong vùng nút, hoặc đầu đó trong phôi, mà từ đây nó khuếch tán dọc theo gradien nước (Fincher, 2011).

Các nhà sản xuất mạch nha thường tập trung vào việc nhanh chóng gây ra quá trình tổng hợp nhiều nhất có thể các enzym phân cắt tinh bột. Trong nhiều chương trình tạo mạch nha thương mại, GA được bổ sung vào để tăng tốc quá trình tiết ra enzym từ lớp aleuron. Các enzym phân cắt tinh bột bao gồm α - và β -amylaza, enzym loại mạch nhánh của tinh bột và α -glucosidaza – khử trùng hợp một phần các nguồn dự trữ tinh bột của hạt thành monosacarit, oligosacarit, và glucoza (Smith và các đồng tác giả, 2005; liên quan đến các β -amylaza nêu trên, đáng chú ý là chúng được dự trữ trong nội nhũ chứa tinh bột trong quá trình phát triển của hạt). Các sản phẩm khử trùng hợp của tinh bột sau đó được các tế bào nấm men sử dụng làm nguồn cacbon và được lên men thành etanol trong bia. Năng lực đường hóa là một thông số đánh giá chất lượng tạo mạch nha, thông số này chỉ mức hoạt tính của nguồn cung cấp các enzym phân cắt tinh bột, và giá trị cao chính là điều mong muốn trong quá trình sản xuất bia.

Một thành phần chính khác của hạt lúa mạch bao gồm các protein dự trữ, mà cũng được phát hiện thấy trong các tế bào nội nhũ chứa tinh bột không hoạt động và bao gồm các hordein cũng như nước và các protein tan trong muối. Việc khử trùng hợp các protein nêu trên cũng bắt đầu một cách tự nhiên trong quy trình sản xuất mạch nha, nhưng những người nấu bia có thể kiểm soát mức độ phân cắt các protein này sao cho lượng vừa đủ peptit và các axit amin được giải phóng để hỗ trợ sự phát triển của nấm men trong bước nảy mầm sau đó tại nhà máy sản xuất bia. Tuy nhiên, nếu mức độ phân cắt các protein dự trữ diễn ra quá lớn thì các protein được giải phóng có thể gây ra các khó khăn cho quá trình nấu bia. Cụ thể, mức protein tan được giải phóng cao có thể kết tủa và tạo ra hiện tượng vẩn đục không mong muốn trong bia thành phẩm và làm tăng khả năng tạo thành aldehyt Strecker trong quá trình bảo quản bia. Trong các chỉ tiêu đánh giá chất lượng tạo mạch nha, nitơ amin tự do (free amino nitrogen - FAN) thích hợp được mong

muốn ở mức thích hợp cho sự phát triển của nấm men trong quá trình lên men. Chỉ số Kolbach là một giá trị đo tỷ lệ protein tan: protein tổng số, với mạch nha cho chỉ số Kolbach tăng ở mức thích hợp thường được ưu tiên. Do đó, mức độ phân cắt protein vẫn là thử thách cho các nhà sản xuất mạch nha. Ngoài vấn đề kết tủa bia mà có thể xuất hiện cùng với việc các protein bị tách chiết quá mức thì mức FAN rất cao cũng có thể dẫn tới các khó khăn, thông qua khả năng tạo ra các hương vị lạ.

Các nhà sản xuất mạch nha cũng đã cố gắng tạo ra enzym phân cắt polysacarit thành tế bào ở mức cao trong các hạt lúa mạch, cụ thể là (1,3;1,4)- β -glucan và arabinoxylan. Các (1,3;1,4)- β -glucan chưa phân cắt hoàn toàn có thể là vấn đề đặc biệt khó khăn cho các nhà sản xuất bia, do chúng có thể được chiết ra khỏi mạch nha ở các dạng tan mà sẽ tạo ra các dung dịch nước có độ nhớt cao làm chậm quá trình lọc trong nhà máy sản xuất bia và góp phần tạo ra hiện tượng vẩn đục không mong muốn trong bia thành phẩm. Theo đó, mức (1,3;1,4)- β -glucan tan thấp sẽ là một thông số quan trọng để đánh giá chất lượng tạo mạch nha, trong khi đó mức enzym (1,3;1,4)- β -glucanaza cao lại là giá trị đo quan trọng thể hiện chất lượng của mạch nha.

Như đã lưu ý ở trên, quy trình tạo mạch nha thường diễn ra trong khoảng 4 đến 5 ngày. Sau bước nảy mầm có kiểm soát, mạch nha ướt được sấy khô từ hàm lượng ẩm khoảng 40% xuống đến 4-đến-5%. Quy trình sấy khô này, được gọi bằng thuật ngữ sấy bằng lò sấy, tiêu tốn rất nhiều năng lượng và là chi phí chủ yếu trong ngành công nghiệp này.

Sấy bằng lò sấy được coi là một khâu quan trọng trong quá trình sản xuất bia bởi nhiều lý do. Một lý do quan trọng đó là trong quá trình nảy mầm các rễ con (cũng được đề cập là “mầm mạch”) được tạo thành. Các rễ con này có vị đắng, ảnh hưởng đến hậu vị của bia, và ngoài ra, các rễ con này có thể tạo thêm màu sắc không mong muốn cho bia (xem tài liệu: Beer Brewing Technology (1999): 183, do Shokuhin Sangyo Shimbun xuất bản và US9,326,542). Ngay sau khi mạch nha xanh được sấy bằng lò sấy, các rễ con có thể dễ dàng được loại bỏ, ví dụ, sử dụng dụng cụ loại bỏ mầm mạch. Theo sách tổng quát về “Malts and Malting” của D.E.

Briggs thì “các mầm mạch phải được loại bỏ [...] vì chúng hút ẩm mạnh, chứa rất nhiều hợp chất chứa nitơ tan, chứa các hợp chất có hương vị kém và đắng và có thể chứa rất nhiều lưu huỳnh dioxit và/hoặc nitrosamin. Việc loại mầm mạch nên được tiến hành sớm sau khi mạch nha được lấy ra khỏi lò sấy để làm nguội nó và trước khi các rễ con hấp thụ ẩm từ không khí, trở nên mềm và dẻo (ít có khả năng đứt gãy hơn) và do đó, khó để phá vỡ và tách ra” (D.E. Briggs, *Malts and Malting*; trang 695 xuất bản lần thứ nhất, 1998 xuất bản bởi Blackie & Professionals, London, ISBN0 412 29800).

Mạch nha được sấy bằng lò sấy thường có mức ẩm 4,5-5,0%. Mạch nha được sấy bằng lò sấy này sau đó được vận chuyển từ xưởng sản xuất mạch nha đến nhà máy sản xuất bia bằng đường bộ, đường sắt hoặc đường biển. Điều này liên quan đến thực tế là các quy trình sản xuất nha và sản xuất bia theo truyền thống được tiến hành ở các địa điểm khác nhau và thường được thực hiện bởi các công ty khác nhau.

Trong các nhà máy sản xuất bia, mạch nha sau khi sấy bằng lò sấy được nghiền để phá vỡ các hạt, và sản phẩm thu được được chiết bằng nước nóng trong quy trình được biết là ngâm ủ. Nguyên liệu được chiết bao gồm tinh bột, protein và các phân tử trong thành tế bào đã được phân cắt một phần như mô tả ở trên, và chúng tiếp tục được phân cắt bằng enzym nội sinh trong hạt mà được chiết ra khỏi mạch nha. Ở giai đoạn này, một số nhà sản xuất bia bổ sung thêm và thường là các nguồn cacbon rẻ hơn (nguyên liệu phụ) để hỗ trợ quá trình lên men bằng nấm men sau đó và để bù đắp cho các chi phí cao hơn cho mạch nha. Các nguyên liệu phụ này có thể là lúa mạch, gạo, lúa mì hoặc các loại bột ngũ cốc khác thu được từ các hạt chưa nảy mầm, nhưng việc bổ sung chúng có thể bắt buộc phải bổ sung đồng thời các enzym thủy phân, do lượng enzym nội sinh trong mạch nha không đủ để phân cắt các thành phần của nguyên liệu phụ nêu trên. Các enzym được bổ sung vào thường là từ các chất chiết chưa được tinh chế và tương đối rẻ từ các việc nuôi cấy nấm và/hoặc vi khuẩn. Việc bổ sung các enzym ngoại sinh ở một số nước bị cấm, đặc biệt là khi bia phải được sản xuất trong các điều kiện được kiểm soát một cách chặt chẽ.

Việc phân cắt thêm tinh bột, và các thành phần khác trong nội nhũ được chiết trong nước nóng diễn ra theo quy trình được biết là đường hóa. Sau khi ngâm ủ, các chất chiết được lọc, thường trong thùng lọc bã, và làm nguội. Chất chiết này có thể được đun sôi với sự có mặt của hoa bia hoặc chất chiết hoa bia, và khi làm nguội, các chủng nấm men được bổ sung vào để lên men đường đã giải phóng thành etanol. Bia được sản xuất theo cách này thường được làm chín và lọc trước khi đóng chai. Bia này cũng có thể được sục khí cacbonic (tạo ga) trước khi đóng chai.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất phương pháp để nảy mầm nhanh và tạo ra nước chiết của các ngũ cốc. Phương pháp này rút ngắn đáng kể quy trình tạo ra dịch hèm để sản xuất các đồ uống được chế biến từ ngũ cốc, trong khi đó vẫn giữ lại khả năng tạo ra dịch hèm có mức đường có thể lên men cao, tốt hơn là có mức β -glucan và xylan thấp. Cụ thể, các đồ uống được sản xuất từ dịch hèm nêu trên có thể đặc trưng bởi vị chát ở mức thấp.

Sáng chế cho thấy rằng quy trình nấu bia liên tục và tích hợp bắt đầu từ hạt lúa mạch khô thành bia có thể diễn ra tại một địa điểm. Theo khía cạnh này, sáng chế đề xuất phương pháp để ngâm và nảy mầm kết hợp cho các hạt ngũ cốc đến hàm lượng ẩm ví dụ $>30\%$, tốt hơn là $>35\%$ thông qua việc sục khí liên tục. Theo đó, sáng chế có thể tiết kiệm được một lượng nước đáng kể thông qua việc loại bỏ việc sấy khô mạch nha cũng như tiết kiệm năng lượng, ví dụ bằng cách loại bỏ bước sấy khô bằng lò sấy.

Trong sáng chế, các hạt được nhúng chìm và ủ trong dung dịch nước (thường là nước), trong đó O_2 được cung cấp vào chất lỏng nêu trên. Thông thường, O_2 này được cung cấp liên tục trong suốt quá trình ủ, mà ví dụ thời gian ủ này có thể nằm trong khoảng từ 20 đến 72 giờ và thường cho phép các hạt không chỉ đạt đến hàm lượng ẩm thích hợp mà còn làm nảy mầm chúng theo cách có kiểm soát. Bước nảy mầm cũng có thể bao gồm một hoặc nhiều giai đoạn để yên trong không khí, thường sau bước ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí. Quá trình nảy mầm có kiểm soát này có thể được rút ngắn bằng cách bổ sung một hoặc nhiều hợp

chất có khả năng tăng tốc quá trình nảy mầm. Ví dụ, hormone thực vật là axit gibberelic (giberelic acid - GA) có thể được bổ sung vào chất lỏng chứa nước nêu trên kể từ khi bắt đầu hoặc trong quá trình ủ. GA sẽ 'hoạt hóa' sự biểu hiện gen trong các tế bào đích của nó, nghĩa là các hạt aleuron và tế bào biểu mô lá mầm của hạt lúa mạch, bao gồm các gen mã hóa các enzym nội sinh cần cho quá trình thủy phân tinh bột, các protein dự trữ và polysaccharit trong thành tế bào. Do đó, tổng thời gian cần để ngâm và nảy mầm có thể được rút ngắn từ hơn 5 ngày trong các quy trình nấu bia thông thường xuống còn khoảng 2 ngày hoặc ít hơn bằng cách sử dụng sáng chế.

Theo quy trình ngâm và nảy mầm kết hợp, phương pháp theo sáng chế bao gồm bước nghiền mịn các hạt ngũ cốc đã nảy mầm. Một khía cạnh được đặc biệt quan tâm của sáng chế là phương pháp theo sáng chế cho phép tiến hành việc nghiền mịn các hạt ngũ cốc đã nảy mầm ngay sau khi nảy mầm. Do đó, nhìn chung phương pháp này không bao gồm bước sấy khô các hạt ngũ cốc đã nảy mầm. Cụ thể, phương pháp này không bao gồm bước sấy khô các hạt ngũ cốc đã nảy mầm bằng lò sấy. Như đã mô tả ở trên, một khía cạnh quan trọng của việc sấy khô bằng lò sấy là cho phép loại bỏ dễ dàng các rễ con. Trước khi sấy khô, việc loại bỏ các rễ con này khó thực hiện được. Tuy nhiên, các hạt ngũ cốc đã nảy mầm được tạo ra theo phương pháp của sáng chế có lượng rễ con giảm đáng kể (thông thường nhỏ hơn 4g trên 100g lúa mạch đã nảy mầm (trọng lượng khô)), và như được thể hiện trong sáng chế, bước sấy khô ngũ cốc đã nảy mầm theo phương pháp của sáng chế bằng lò sấy đã không còn cần đến.

Các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có thể, ví dụ được nghiền mịn bằng cách nghiền ướt các hạt ngũ cốc đã nảy mầm này, sau bước chuẩn bị nước chiết, ví dụ, bằng cách ngâm ủ ở nhiệt độ định trước trong một khoảng thời gian thích hợp như được mô tả dưới đây trong phần "Chuẩn bị nước chiết". Việc chuyển hóa saccharit đã giải phóng, ví dụ, polysaccharit, và các protein có thể được hỗ trợ trong quá trình ngâm ủ bằng cách bổ sung các hỗn hợp của các enzym ngoại sinh mà xúc tác cho quá trình phân cắt tinh bột, các protein dự trữ và polysaccharit trong thành tế bào. Các enzym này có thể được tinh chế một phần từ chính lúa mạch, từ mạch nha hoặc từ các

nguồn khác hoặc, theo cách khác, từ hỗn hợp enzym của nấm và/hoặc vi khuẩn có thể mua được từ các nguồn trên thị trường.

Bên cạnh các lợi ích như đã mô tả ở trên, sáng chế không chỉ loại bỏ được nhu cầu cần phải sấy khô mạch nha bằng lò sấy, mà còn loại bỏ cả nhu cầu vận chuyển các hạt đã sấy khô từ xưởng sản xuất mạch nha đến nhà máy sản xuất bia. Lượng năng lượng tiết kiệm được lên tới 50% có thể thu được thông qua phương pháp ngâm và nảy mầm kết hợp theo sáng chế, mà có thể giảm mạnh dấu ấn cacbon trong ngành công nghiệp này. Điều này có ý nghĩa quan trọng vì trên thế giới, áp lực pháp lý và các áp lực về thuế ngày càng tăng lên ở hầu hết các nước nhằm làm giảm dấu ấn cacbon trong ngành công nghiệp sản xuất mạch nha và sản xuất bia.

Ngoài ra, ở khía cạnh tính bền vững, sáng chế cho phép toàn bộ quy trình sản xuất bia được thực hiện trong thiết bị nấu bia đã có, vì vậy chỉ cần chi phí vốn bổ sung ít.

Sáng chế còn được xác định trong các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện một ví dụ về thiết bị thích hợp để thực hiện phương pháp theo sáng chế trong đó các hạt có thể được ngâm trong dung dịch nước và được sục khí liên tục. Thiết bị này bao gồm cửa nạp hạt ngũ cốc (1), thùng chứa, ví dụ, thùng ngâm (2); cửa nạp khí, ví dụ, đá thiêu kết (3); bơm ví dụ, bơm không khí (4); cửa tháo hạt ngũ cốc (5); bơm cấp hạt (6); thiết bị để nghiền mịn các hạt ngũ cốc ví dụ, máy nghiền (7); cửa nạp (8); thùng chứa, ví dụ, bình ngâm ủ (9), và cửa tháo (10).

Fig.2 thể hiện các hạt lúa mạch không vỏ sau khi ủ trong nước ở 15°C hoặc 25°C trong 24 giờ hoặc 48 giờ trong dòng không khí đã thể hiện. A thể hiện đồng hạt, trong khi đó B thể hiện từng hạt đơn lẻ đại diện. Đáng chú ý là sau 24 giờ ở 15°C, các hạt này bắt đầu nảy mầm (với mầm nhìn thấy thậm chí với dòng không khí 30 l/giờ, và một vài rễ nhỏ nhìn thấy được sau 48 giờ. Sau 24 giờ ở 25°C, các hạt này đã bắt đầu nảy mầm và có mầm nhìn thấy, thậm chí với dòng không khí chỉ là 30 l/giờ. Với dòng không khí lớn hơn, hoặc sau 48 giờ, thì nhìn thấy được vài rễ con nhỏ.

Fig.3 thể hiện các hạt lúa mạch đã bỏ vỏ sau khi ủ trong nước ở 15°C hoặc 25°C

C trong 24 giờ hoặc 48 giờ trong dòng không khí đã chỉ định. A thể hiện đồng hạt, trong khi đó B thể hiện từng hạt đơn lẻ đại diện.

Fig.4 thể hiện biểu đồ sơ đồ liên quan đến hoạt tính của α -amylaza (bảng A), β -amylaza (bảng B) và dextrinaza giới hạn (bảng C) trong các hạt được nảy mầm với sự có mặt của các lượng GA khác nhau trong nước trong điều kiện sục khí.

Fig.5 thể hiện một ví dụ về quy trình chà nghiền với các hạt được ngâm, nảy mầm và nghiền ướt.

Fig.6 thể hiện biểu đồ về khả năng lọc của dịch hèm, được tạo ra từ các hạt đã nảy mầm trong các điều kiện sục khí thay đổi khi có mặt hoặc không có mặt hỗn hợp enzym dùng để nấu bia Ultraflo Max (UFM).

Fig.7 thể hiện biểu đồ về mức đường có thể lên men trong dịch hèm được tạo ra từ các hạt đã nảy mầm trong 48 giờ ở 25°C trong các điều kiện sục khí thay đổi. Các mẫu được bổ sung hỗn hợp enzym dùng để nấu bia Ultraflo Max được đánh dấu là UFM.

Fig.8 thể hiện một ví dụ về thiết bị thích hợp để thực hiện các bước của sáng chế trong đó các hạt có thể được ngâm trong dung dịch nước và được sục khí liên tục. Thiết bị bao gồm: cửa nạp hạt ngũ cốc (1); thùng chứa, ví dụ, FlexTank (2); lưới hoặc sàng, ví dụ, sàng meta (3); cửa nạp khí, ví dụ, đá thiêu kết (4) và; bơm, ví dụ, bơm không khí (5).

Fig.10 thể hiện α -amylaza trong 8 giống lúa mạch sau khi nảy mầm trong điều kiện sục khí (1 – Alexis, 2 – Chief, 3 – Chill, 4 – Paustian, 5 – Planet, 6 – Prestige, 7 – Quench, 8 – Tipple)

Fig.11 thể hiện hoạt tính của α -amylaza, β -amylaza và dextrinaza giới hạn trong lúa mạch đã bỏ vỏ được xát để loại bỏ vỏ trấu và sau đó nảy mầm trong điều kiện sục khí.

Fig.12 thể hiện hoạt tính của α -amylaza, β -amylaza và dextrinaza giới hạn trong lúa mạch được nảy mầm trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí (WA) có hoặc không có (các) giai đoạn để yên trong không khí (A) trong các khoảng thời gian đã chỉ định trong lúa mạch không có vỏ 01 (Fig.11A) và trong lúa mạch đã bỏ vỏ 02 (Fig.11B).

Fig.13 thể hiện % tổn hao khối lượng sau khi loại bỏ rễ con ở cả lúa mạch nảy mầm đã bỏ vỏ và không có vỏ bằng cách ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí trong 48 giờ (48 giờ WA) và lúa mạch nảy mầm bằng các điều kiện ngâm chuẩn trong 96 giờ (tạo mạch nha trong 96 giờ).

Fig.14 thể hiện hàm lượng NDMA trong lúa mạch chưa nảy mầm, trong lúa mạch nảy mầm bằng phương pháp theo sáng chế (Mạch nha 1a), và trong 3 mạch nha thông thường khác nhau (Mạch nha 1b, Mạch nha 2 và Mạch nha 3).

Mô tả chi tiết sáng chế

Các định nghĩa

Thuật ngữ "khoảng" khi được sử dụng trong bản mô tả này liên quan đến các giá trị bằng số ưu tiên có nghĩa 10%, ưu tiên hơn có nghĩa là 5%, ưu tiên hơn nữa có nghĩa là 1%.

Thuật ngữ "nguyên liệu phụ" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ các nguồn nguyên liệu thô giàu cacbon được bổ sung vào trong quá trình sản xuất bia. Nguyên liệu phụ này có thể là hạt ngũ cốc chưa nảy mầm, mà có thể được nghiền cùng với các hạt đã nảy mầm được chuẩn bị theo sáng chế. Nguyên liệu phụ này cũng có thể là xiro, đường, hoặc các nguyên liệu tương tự.

Thuật ngữ "mầm" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ chồi phát triển từ phôi mà nhìn thấy được trong giai đoạn nảy mầm của hạt ngũ cốc.

Thuật ngữ "hàm lượng nước" của hạt như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ % nước tính bằng trọng lượng/trọng lượng trong hạt nêu trên.

Thuật ngữ "hạt đã nảy mầm" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ các hạt đã phát triển mầm nhìn thấy được, tốt hơn là mầm cao ít nhất là 1 mm, như ít nhất là cao 2 mm.

Thuật ngữ " β -glucan" như được sử dụng trong bản mô tả này, trừ khi được chỉ rõ là có nghĩa khác, chỉ polyme nằm trong thành tế bào của ngũ cốc "(1,3;1,4)- β -glucan".

Tương tự, thuật ngữ "xylan" như được sử dụng trong bản mô tả này, trừ khi được chỉ rõ là có nghĩa khác, chỉ polyme nằm trong thành tế bào của ngũ cốc "arabinoxylan".

Các thuật ngữ "mạch nha được sấy khô bằng lò sấy" và "mạch nha được sấy bằng lò sấy" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ các hạt ngũ cốc nảy mầm, mà đã được sấy khô bằng cách sấy khô bằng lò sấy.

Thuật ngữ "hạt đã nảy chồi" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ hạt đã phát triển mầm nhìn thấy và thân nhìn thấy.

Thuật ngữ "ngâm" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ quá trình làm tăng hàm lượng nước của hạt ngũ cốc.

Thuật ngữ " β -glucanaza" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ các enzym có khả năng khử trùng hợp hóa β glucan của ngũ cốc. Do đó, trừ khi được chỉ rõ là có nghĩa khác, thuật ngữ " β glucanaza" chỉ endo- hoặc exo-enzym hoặc hỗn hợp của chúng đặc trưng bởi hoạt tính (1,3;1,4)- β - và/hoặc (1,4)- β -glucanaza.

Thuật ngữ "xylanaza" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ các enzym có khả năng phân cắt mạch chính và mạch nhánh của xylan và arabinoxylan. Do đó, trừ khi được chỉ rõ là có nghĩa khác, thuật ngữ "xylanaza" chỉ enzym hoặc hỗn hợp enzym đặc trưng bởi các hoạt tính enzym thu được từ một hoặc nhiều nhóm enzym sau: endo-1,4-xylanaza; exo-1,4-xylanaza; arabinofuranosidaza; esteraza của axit ferulic.

Hoạt tính enzym của các hạt ngũ cốc như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ hoạt tính đo được trong bột được chuẩn bị từ một loại hạt cụ thể. Ví dụ, 10 U/g hoạt tính α -amylaza trên gam hạt ngũ cốc chỉ hoạt tính α -amylaza nêu trên (10 U) đo được trong nước chiết thu được từ 1g bột (chất khô) từ ngũ cốc nêu trên. Hoạt tính α -amylaza được xác định bằng K-CERA 01/12 (quy trình và bộ kit có sẵn từ Megazyme, Ireland). Hoạt tính β -amylaza được xác định bằng K-BETA3 (quy trình và bộ kit có sẵn từ Megazyme, Ireland). Hoạt tính dextrinaza giới hạn được xác định bằng T-LDZ1000 (quy trình và bộ kit có sẵn từ Megazyme, Ireland).

Thể tích khí như được thể hiện trong bản mô tả này chỉ thể tích của khí nêu trên ở áp suất 1 atm và 20°C.

Thể tích của O_2 như được thể hiện trong bản mô tả này chỉ thể tích của O_2 ở 1 atm và 20°C. Theo các phương án của sáng chế khi O_2 được bao gồm trong hỗn hợp các khí, thì tổng thể tích của hỗn hợp khí này có thể được xác định, và thể tích

của O₂ có thể được tính toán là phần trăm của tổng thể tích được tạo nên bởi O₂. Ví dụ, không khí bao gồm 21% O₂. Do đó, thể tích của O₂ trong không khí như được sử dụng trong bản mô tả này chiếm 21% tổng thể tích của không khí.

Các hạt ngũ cốc

Phương pháp theo sáng chế bao gồm bước nảy mầm, mà bao gồm việc ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước. Cần lưu ý rằng hỗn hợp của dung dịch nước và các hạt ngũ cốc có thể được coi là hỗn dịch.

Hạt ngũ cốc có thể là hạt ngũ cốc bất kỳ, ví dụ ngũ cốc được chọn từ nhóm bao gồm lúa mạch, gạo, cao lương, ngô, kê, tiểu hắc mạch, lúa mạch đen, yến mạch và lúa mì. Theo các phương án được ưu tiên của sáng chế, các hạt ngũ cốc là các hạt lúa mạch. Các hạt này có thể là các hạt thuộc giống lúa mạch bất kỳ, như các giống lúa mạch bất kỳ được mô tả dưới đây trong phần "Lúa mạch".

Các hạt ngũ cốc có thể có hàm lượng nước tương đối thấp trước khi ủ trong dung dịch nước nêu trên. Ví dụ, các hạt ngũ cốc có thể có hàm lượng nước nhiều nhất là 30%, tốt hơn nếu nhiều nhất là 20%, như nhiều nhất là 15%, ví dụ nằm trong khoảng từ 5 đến 15%.

Trước khi ủ trong dung dịch nước nêu trên, hạt ngũ cốc này có thể được xử lý diệt vi sinh vật bằng một hoặc nhiều bước. Việc xử lý diệt vi sinh vật này có thể là xử lý diệt vi sinh vật thích hợp bất kỳ, mà không ảnh hưởng xấu đến khả năng nảy mầm của hạt. Việc xử lý diệt vi sinh vật có thể ví dụ là việc xử lý bằng một hoặc nhiều chất diệt vi sinh vật. Các chất diệt vi sinh vật này có thể là chất diệt vi sinh vật bất kỳ, mà ở các nồng độ được sử dụng không gây độc cho các hạt ngũ cốc. Ví dụ, chất diệt vi sinh vật có thể là hợp chất chứa clo, ví dụ, hypochlorit. Chất diệt vi sinh vật này cũng có thể là peroxit, ví dụ, hydro peroxit và/hoặc axit peraxetic. Các ví dụ không giới hạn về các chất diệt vi sinh vật hữu ích có bán trên thị trường bao gồm P3Hypochloran®, P3-peroxysan® hoặc P3-oxonia active 150®. Các hạt ngũ cốc có thể được xử lý bằng hypochloran ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 10%, như nằm trong khoảng từ 0,5 đến 5%, ví dụ khoảng 1%, như 1%. Các hạt ngũ cốc có thể được xử lý bằng hypochloran nêu trên trong thời gian khoảng từ 15 phút đến 10 giờ, như nằm trong khoảng từ 1 đến 5 giờ, ví dụ nằm

trong khoảng từ 2 đến 4 giờ. Sau khi xử lý, các hạt ngũ cốc có thể được rửa một hoặc nhiều lần.

Theo một số phương án của sáng chế, việc xử lý diệt vi sinh vật được thực hiện bằng cách ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước chứa chất diệt vi sinh vật. Ngay sau bước ủ nêu trên, bước nảy mầm có thể được bắt đầu, ví dụ, bằng cách bắt đầu sục khí. Do đó, trong các phương án này, không cần phải thay đổi dung dịch nước, và cùng dung dịch nước có thể được sử dụng để xử lý diệt vi sinh vật và ít nhất trong thời điểm bắt đầu của bước nảy mầm sau đó. Cụ thể, đây có thể là trường hợp, khi chất diệt vi sinh vật là peroxit, ví dụ, hydro peroxit.

Có thể tốt hơn nếu các hạt ngũ cốc nêu trên chưa được nảy mầm trước khi ủ trong dung dịch nước theo sáng chế. Do đó, có thể tốt hơn nếu các hạt ngũ cốc không trải qua bước nảy mầm trước.

Như đã mô tả ở trên, hạt ngũ cốc này có thể là hạt ngũ cốc bất kỳ. Một số hạt ngũ cốc bao gồm vỏ, trong khi đó các hạt ngũ cốc khác lại không có vỏ. Các hạt ngũ cốc đã bỏ vỏ có thể được xử lý để loại bỏ ít nhất là phần vỏ trước bước nảy mầm. Thông thường, việc xử lý loại bỏ vỏ là không cần thiết nếu sử dụng hạt ngũ cốc không có vỏ. Các hạt ngũ cốc không có vỏ bao gồm ví dụ các giống lúa mạch không có vỏ và lúa mì.

Các hạt ngũ cốc đã bỏ vỏ có thể được xử lý để loại bỏ vỏ bằng cách xử lý vật lý các hạt ngũ cốc này để loại bỏ vỏ. Việc xử lý vật lý nêu trên có thể ví dụ được chọn từ nhóm bao gồm chà xát, xoa cát, tróc vỏ và làm nhẵn. Tốt hơn, nếu việc xử lý vật lý dẫn tới mất vỏ. Việc mất vỏ có thể được xác định là tổng trọng lượng hao hụt. Do đó, việc xử lý vật lý tốt hơn nếu dẫn tới việc mức hao hụt này nằm trong khoảng từ 1 đến 4%, như mức nằm trong khoảng từ 1,5 đến 3,0% tổng trọng lượng của hạt ngũ cốc này.

Nảy mầm

Phương pháp theo sáng chế bao gồm bước nảy mầm các hạt ngũ cốc. Bước nảy mầm bao gồm bước ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước thường trong điều kiện sục khí.

Ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí

Các hạt ngũ cốc có thể là các hạt ngũ cốc bất kỳ được mô tả trên đây trong phần "Các hạt ngũ cốc", và dung dịch nước có thể là dung dịch nước bất kỳ được mô tả dưới đây trong phần "Dung dịch nước".

Có thể tốt hơn nếu trong quá trình ủ dung dịch nước nêu trên, các hạt ngũ cốc được bao phủ hoàn toàn bằng dung dịch nước trong toàn bộ quá trình ủ. Do đó, các hạt ngũ cốc có thể ví dụ được ủ trong ít nhất là 1, tốt hơn nếu ít nhất là 1,5, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 2, ví dụ trong khoảng từ 1 đến 10, như trong khoảng từ 1 đến 5, ví dụ trong khoảng từ 1,5 đến 31 dung dịch nước trên kg hạt ngũ cốc (trọng lượng khô).

Do đó, theo một số phương án, các hạt ngũ cốc được nhúng chìm trong dung dịch nước trong toàn bộ thời gian ủ.

Trong các phương án khác, các hạt ngũ cốc hấp thụ dung dịch nước theo cách, sao cho vào thời điểm kết thúc quá trình ủ với dung dịch nước này, toàn bộ dung dịch nước đều được hấp thụ bởi các hạt ngũ cốc này.

Trong các phương án khác, dung dịch nước còn lại sau khi ủ trong điều kiện sục khí có thể được tháo bỏ khỏi các hạt ngũ cốc này.

Theo một số phương án, tốt hơn nếu sau khi ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước nêu trên, thì phần lớn, ví dụ ít nhất là 70%, tốt hơn nếu ít nhất là 80%, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 90%, thậm chí tốt hơn nữa nếu ít nhất là 95%, như gần như toàn bộ các hạt ngũ cốc có mầm nhìn thấy với ít nhất là 1 mm.

Theo một số phương án, sau khi ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước nêu trên, thì phần lớn, ví dụ ít nhất là 70%, như ít nhất là 80%, ví dụ ít nhất là 90%, như ít nhất là 95%, như gần như toàn bộ các hạt ngũ cốc có một hoặc nhiều rễ con nhìn thấy được.

Theo một số phương án, sau khi ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước nêu trên, thì phần lớn, ví dụ ít nhất là 70%, như ít nhất là 80%, ví dụ ít nhất là 90%, như ít nhất là 95%, như gần như toàn bộ các hạt ngũ cốc có một hoặc nhiều rễ con nhìn thấy được và thân nhìn thấy được.

Theo một số phương án, sau khi ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước nêu trên, thì các hạt ngũ cốc có hàm lượng nước thấp nhất là 30%, tốt hơn nếu ít nhất là

35%, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 37%, ví dụ nằm trong khoảng từ 35 đến 60%, như nằm trong khoảng từ 35 đến 50%, ví dụ nằm trong khoảng từ 37 đến 60%, như nằm trong khoảng từ 37 đến 50%.

Hàm lượng nước của các hạt ngũ cốc có thể được xác định bằng cách xác định trọng lượng của hạt ngũ cốc này, sau khi sấy khô các hạt ngũ cốc này và xác định trọng lượng của các hạt ngũ cốc đã sấy khô. Chênh lệch giữa trọng lượng của các hạt ngũ cốc ướt và khô được coi là nước, và hàm lượng nước được tính bằng trọng lượng của nước chia cho tổng trọng lượng của các hạt ngũ cốc (các hạt ngũ cốc ướt). Hàm lượng nước được tính bằng đơn vị %, do đó là % trọng lượng/trọng lượng.

Các hạt ngũ cốc có thể được ủ trong dung dịch nước nêu trên trong thời gian đủ để cho phép nảy mầm phần lớn các hạt ngũ cốc nêu trên như đã mô tả ở trên. Các hạt ngũ cốc có thể cũng được ủ trong dung dịch nước nêu trên trong thời gian đủ để thu được hàm lượng nước đã đề cập ở trên. Theo một số phương án của sáng chế, bước nảy mầm bao gồm ủ trong dung dịch nước sau giai đoạn để yên trong không khí. Theo các phương án này, việc ủ trong dung dịch nước được tiến hành trong thời gian đủ để cho phép hoạt tính enzym ở mức thích hợp trong các hạt ngũ cốc đã nảy mầm sau giai đoạn để yên trong không khí. Tốt hơn, nếu hoạt tính enzym là như được mô tả dưới đây trong phần “Các hạt ngũ cốc đã nảy mầm”.

Thông thường, các hạt ngũ cốc được ủ trong dung dịch nước trong ít nhất là 20 giờ, như ít nhất là 24 giờ. Thông thường, các hạt này được ủ trong dung dịch nước nêu trên trong tối đa là 72 giờ, như trong tối đa là 60 giờ, ví dụ trong tối đa là 48 giờ. Do đó, theo một số phương án, các hạt ngũ cốc được ủ trong dung dịch nước nêu trên trong thời gian nằm trong khoảng từ 20 đến 72 giờ, như nằm trong khoảng từ 20 đến 60 giờ, ví dụ nằm trong khoảng từ 20 đến 48 giờ, ví dụ nằm trong khoảng từ 20 đến 30 giờ, như nằm trong khoảng từ 22 đến 26 giờ.

Theo một số phương án các hạt ngũ cốc được ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí trong thời gian nằm trong khoảng từ 24 đến 60 giờ, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 40 đến 55 giờ, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 45 đến 50 giờ. Cụ thể, đây có thể là một trường hợp trong các phương án của sáng chế,

trong đó việc nảy mầm không bao gồm bước để yên trong không khí, ví dụ trong các phương án, trong đó các hạt ngũ cốc được nghiền mịn gần như ngay sau khi ủ trong dung dịch nước.

Theo một số phương án, các hạt ngũ cốc được ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí trong thời gian nằm trong khoảng từ 24 đến 70 giờ, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 40 đến 60 giờ, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 45 đến 55 giờ. Cụ thể, đây có thể là một trường hợp trong các phương án của sáng chế, trong đó việc nảy mầm không bao gồm bước để yên trong không khí, ví dụ trong các phương án, trong đó các hạt ngũ cốc các hạt ngũ cốc được nghiền mịn gần như ngay sau khi ủ trong dung dịch nước.

Theo một số phương án, các hạt ngũ cốc được ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí trong thời gian nằm trong khoảng từ 16 đến 40 giờ, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 16 đến 30 giờ, như nằm trong khoảng từ 20 đến 30 giờ, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 22 đến 26 giờ. Cụ thể, đây có thể là một trường hợp trong các phương án của sáng chế, trong đó việc nảy mầm còn bao gồm bước để yên trong không khí.

Hạt ngũ cốc này có thể được ủ ở nhiệt độ bất kỳ thích hợp, tuy nhiên có thể tốt hơn nếu việc ủ được tiến hành ở nhiệt độ đủ cao để cho phép tăng nhanh hàm lượng nước. Như được thể hiện dưới đây trong ví dụ 1, thì việc tăng nhiệt độ đáng kể có thể sẽ làm tăng hàm lượng nước. Do đó, có thể tốt hơn nếu các hạt ngũ cốc được ủ trong dung dịch nước nêu trên ở nhiệt độ thấp nhất là 15°C, như thấp nhất là 20°C, như thấp nhất là 25°C. Cụ thể, các hạt ngũ cốc có thể được ủ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10 đến 35°C, tốt hơn nếu ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 15 đến 30°C, như trong khoảng từ 20 đến 30°C, ví dụ trong khoảng từ 25 đến 30°C.

Cụ thể, trong các phương án của sáng chế trong đó các hạt ngũ cốc được ủ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 30°C, thì các hạt ngũ cốc nêu trên có thể được ủ trong thời gian nằm trong khoảng từ 20 đến 48 giờ.

Như được mô tả trên đây, thì các hạt ngũ cốc nêu trên thường được ủ trong dung dịch nước nêu trên, đồng thời O₂ được cho đi qua dung dịch nước này. Điều này cũng được đề cập là các hạt ngũ cốc nêu trên được ủ trong dung dịch nước

trong điều kiện sục khí. Tốt hơn, nếu O_2 được cho đi qua dung dịch nước liên tục trong toàn bộ quá trình ủ. O_2 nêu trên có thể được cho đi qua dung dịch nước theo cách thích hợp bất kỳ, tuy nhiên thông thường khí chứa O_2 được đưa vào phần đáy và/hoặc ở phần dưới của vật chứa chứa dung dịch nước cùng với các hạt ngũ cốc này. Thông thường, khí sẽ khuếch tán qua hỗn hợp dung dịch nước/hạt ngũ cốc và rời hỗn hợp dung dịch nước/hạt ngũ cốc từ phía trên của dung dịch nước. Cụ thể, việc ủ có thể được tiến hành trong thiết bị như được mô tả dưới đây trong phần "Thiết bị". Các khí nặng, đáng chú ý là CO_2 , cũng có thể được hút ra từ đáy của vật chứa, theo đó không khí/ O_2 mới có thể được cung cấp vào từ phần trên của vật chứa.

O_2 nêu trên có thể được bổ sung vào dung dịch nước nêu trên dưới dạng O_2 tinh khiết. Tuy nhiên, thông thường O_2 này được bao gồm trong hỗn hợp khí. Theo một phương án, O_2 nêu trên được bao gồm trong không khí. Do đó, phương pháp theo sáng chế có thể bao gồm bước cho không khí đi qua dung dịch nước nêu trên.

Thông thường, ít nhất là 2l, tốt hơn nếu ít nhất là 3l, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 4l, còn tốt hơn nữa nếu ít nhất là 5l, thậm chí tốt hơn nữa nếu ít nhất là 6l O_2 trên kg hạt ngũ cốc trên giờ được cho đi qua dung dịch nước nêu trên. Trọng lượng các hạt ngũ cốc nêu trên là trọng lượng khô. Ví dụ, khoảng từ 2 đến 100l, ví dụ khoảng từ 2 đến 75l, như khoảng từ 2 đến 50l, ví dụ khoảng từ 4 đến 100l, ví dụ khoảng từ 4 đến 75l, như khoảng từ 4 đến 50l, ví dụ khoảng từ 6 đến 100l, ví dụ khoảng từ 6 đến 75l, như khoảng từ 6 đến 50l O_2 trên kg các hạt ngũ cốc (trọng lượng khô) trên giờ được cho đi qua hỗn hợp dung dịch nước/hạt ngũ cốc nêu trên.

Theo một phương án, tốt hơn nếu ít nhất là 20g O_2 trên kg hạt ngũ cốc, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 30g O_2 trên kg hạt ngũ cốc, còn tốt hơn nữa nếu ít nhất là 40g O_2 trên kg hạt ngũ cốc, ví dụ khoảng từ 40 đến 100g O_2 trên kg hạt ngũ cốc, như khoảng từ 40 đến 80g O_2 trên kg hạt ngũ cốc, ví dụ khoảng từ 60g O_2 trên kg hạt ngũ cốc trên giờ được cho đi qua hỗn hợp dung dịch nước/hạt ngũ cốc nêu trên. Trọng lượng của hạt ngũ cốc này được cung cấp dưới dạng trọng lượng khô. Trong khi ủ, các hạt ngũ cốc thường hấp thụ ít nhất là một ít dung dịch nước và do đó nồng độ của O_2 trong dung dịch nước sẽ thường thay đổi trong quá trình ủ. Thông

thường, lượng O_2 được cung cấp tính bằng l dung dịch nước trên giờ nằm trong khoảng từ 40 đến 200g, tốt hơn là khoảng từ 50 đến 150g.

Như đã nêu trên, thường không khí được cho đi qua dung dịch nước. Do đó, phương pháp này có thể bao gồm việc cho ít nhất là 10l, tốt hơn nếu ít nhất là 15l, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 20l, còn tốt hơn nữa nếu ít nhất là 25l, thậm chí tốt hơn nữa nếu ít nhất là 30l không khí trên kg hạt ngũ cốc trên giờ được cho đi qua dung dịch nước nêu trên. Trọng lượng các hạt ngũ cốc này là trọng lượng khô. Ví dụ, khoảng từ 10 đến 500l, ví dụ khoảng từ 10 đến 375l, như khoảng từ 10 đến 250l, ví dụ khoảng từ 20 đến 500l, ví dụ khoảng từ 20 đến 375l, như khoảng từ 20 đến 250l, ví dụ khoảng từ 30 đến 500l, ví dụ khoảng từ 30 đến 375l, như khoảng từ 30 đến 250l không khí trên kg các hạt ngũ cốc (trọng lượng khô) trên giờ được cho đi qua dung dịch nước nêu trên. Theo một phương án, khoảng từ 50 đến 110l, tốt hơn là từ 80 đến 100l không khí trên kg các hạt ngũ cốc (trọng lượng khô) trên giờ được cho đi qua dung dịch nước nêu trên.

Để yên trong không khí

Ngoài việc ủ nêu trên trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí, các hạt ngũ cốc cũng có thể được ủ trong không khí (ví dụ, khi không có mặt dung dịch nước). Bước việc ủ trong không khí cũng có thể được đề cập là “để yên trong không khí”. Do đó, sau khi ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí, dung dịch nước còn lại có thể được tháo bỏ và các hạt ngũ cốc có thể được ủ trong không khí. Theo cách khác, sau khi ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí, toàn bộ dung dịch nước đã được hấp thụ bởi các hạt ngũ cốc, mà sau đó có thể được ủ trong không khí. Tốt hơn, nếu việc ủ trong không khí nêu trên được tiến hành trong điều kiện sục khí, ví dụ O_2 có thể được cho đi qua vật chứa chứa các hạt ngũ cốc này. Tốt hơn, nếu O_2 được cho đi qua vật chứa trong toàn bộ giai đoạn để yên trong không khí. Lượng O_2 được cho đi qua vật chứa chứa các hạt ngũ cốc này, có thể là cùng lượng O_2 được cho đi qua dung dịch nước như đã mô tả ở trên. O_2 có thể được cung cấp ở dạng không khí.

Việc để yên trong không khí có thể được tiến hành trong khoảng thời gian thích hợp bất kỳ, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 18 đến 50 giờ, tốt hơn nữa nếu

nằm trong khoảng từ 18 đến 38 giờ, ví dụ nằm trong khoảng từ 22 đến 35 giờ.

Trong giai đoạn để yên trong không khí, nước hoặc dung dịch nước bổ sung có thể được bổ sung vào các hạt ngũ cốc này, ví dụ, bằng cách tưới hoặc phun tưới. Tuy nhiên, trong giai đoạn để yên trong không khí, các hạt ngũ cốc không nên được nhúng chìm trong dung dịch nước.

Các phương pháp nảy mầm

Quy trình nảy mầm có thể cũng bao gồm vài bước ủ trong dung dịch nước và/hoặc vài bước để yên trong không khí. Thông thường, bước đầu tiên là bước ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí như đã mô tả ở trên. Do đó, quy trình nảy mầm có thể bao gồm hoặc gồm các bước sau:

- ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí như đã mô tả ở trên trong phần “Ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí”
- ủ các hạt ngũ cốc trong không khí như đã mô tả ở trên trong phần “Để yên trong không khí”

Theo phương án này, bước ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí có thể ví dụ được thực hiện trong thời gian nằm trong khoảng từ 16 đến 30 giờ, như nằm trong khoảng từ 20 đến 30 giờ, ví dụ nằm trong khoảng từ 22 đến 26 giờ, trong khi đó bước để yên trong không khí có thể được tiến hành trong khoảng thời gian nằm trong khoảng từ 18 đến 38 giờ, ví dụ nằm trong khoảng từ 22 đến 35 giờ.

Quy trình nảy mầm có thể cũng bao gồm hoặc gồm các bước sau:

- ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí như đã mô tả ở trên trong phần “Ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí”
- ủ các hạt ngũ cốc trong không khí như đã mô tả ở trên trong phần “Để yên trong không khí”
- ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí như đã

mô tả ở trên trong phần “Ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí”

Quy trình này mầm có thể cũng bao gồm hoặc gồm các bước sau:

- ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí như đã mô tả ở trên trong phần “Ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí”
- ủ các hạt ngũ cốc trong không khí như đã mô tả ở trên trong phần “Để yên trong không khí”
- ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí như đã mô tả ở trên trong phần “Ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí”
- ủ các hạt ngũ cốc trong không khí như đã mô tả ở trên trong phần “Để yên trong không khí”

Quy trình này mầm cũng có thể bao gồm hoặc gồm các bước sau:

- ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí như đã mô tả ở trên trong phần “Ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí”
- ủ các hạt ngũ cốc trong không khí như đã mô tả ở trên trong phần “Để yên trong không khí”
- ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí như đã mô tả ở trên trong phần “Ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí”
- ủ các hạt ngũ cốc trong không khí như đã mô tả ở trên trong phần “Để yên trong không khí”
- ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí như đã

mô tả ở trên trong phần “Ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí”

Thời gian cho mỗi bước ủ có thể thay đổi, tuy nhiên thông thường toàn bộ bước nảy mầm, nghĩa là tổng thời gian cho toàn bộ các bước ủ trong dung dịch nước và toàn bộ bước để yên trong không khí không vượt quá 72 giờ, tốt hơn nếu không vượt quá 60 giờ, thậm chí tốt hơn nếu không vượt quá 54 giờ. Do đó, có thể tốt hơn nếu toàn bộ bước nảy mầm được tiến hành trong thời gian nằm trong khoảng từ 20 đến 72 giờ, như trong thời gian nằm trong khoảng từ 24 đến 60 giờ, ví dụ nằm trong khoảng từ 24 đến 48 giờ. Do đó, nếu quá trình nảy mầm bao gồm một vài bước ủ trong dung dịch nước và/hoặc để yên trong không khí, thì mỗi bước ủ thường ngắn hơn.

Tốt hơn, nếu tất cả các bước nảy mầm được tiến hành trong cùng một vật chứa. Cụ thể, vật chứa này có thể là thùng chứa, như thùng chứa bất kỳ được mô tả dưới đây trong phần “Thiết bị”.

Theo một số phương án một hoặc nhiều enzym ngoại sinh có thể được bổ sung. Ví dụ, một hoặc nhiều enzym có thể được bổ sung trong bước nảy mầm ví dụ, như được mô tả trong WO2016/071463.

Tốt hơn, nếu các hạt ngũ cốc được nghiền mịn gần như ngay sau khi nảy mầm. Do đó, tốt hơn nếu phương pháp theo sáng chế không bao gồm bước sấy khô giữa bước nảy mầm và nghiền mịn các hạt ngũ cốc này.

Hạt ngũ cốc đã nảy mầm

Sáng chế đề cập đến phương pháp bao gồm bước tạo ra các hạt ngũ cốc đã nảy mầm.

Tốt hơn, nếu các hạt ngũ cốc đã nảy mầm này bao gồm một hoặc nhiều hoạt tính enzym thủy phân, ví dụ được cung cấp bởi α -amylaza, β -amylaza, enzym loại nhánh của tinh bột (như dextrinaza giới hạn), -glucosidaza và proteaza.

Thông thường, thời điểm hoạt tính enzym thủy phân bắt đầu có tác dụng có thể xuất hiện theo cách được phối hợp kịp thời, và do đó hoạt tính của một số enzym thủy phân có thể được sử dụng làm chỉ báo cho hoạt tính enzym thủy phân khác.

Do đó, tốt hơn nếu các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có mức hoạt tính -amylaza đo được thích hợp. Tốt hơn, nếu các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có hoạt tính α -amylaza đo được ít nhất là 4 U/g, như ít nhất là 10 U/g hạt ngũ cốc (trọng lượng khô). Do đó, tốt hơn nếu các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có thể có hoạt tính α -amylaza đo được ít nhất là 20 U/g, ví dụ ít nhất là 30 U/g, như ít nhất là 40 U/g, ví dụ ít nhất là 50 U/g hạt ngũ cốc (trọng lượng khô). Theo các phương án của sáng chế khi hạt ngũ cốc này là lúa mỳ thì hoạt tính amylaza có thể là ít nhất là 30 U/g. Theo một số phương án của sáng chế, hạt ngũ cốc này có thể có hoạt tính α -amylaza ít nhất là 50 U/g, ví dụ ít nhất là 60 U/g, như ít nhất là 70 U/g hạt ngũ cốc (trọng lượng khô). Cụ thể, đây có thể là trường hợp trong các phương án khi các hạt ngũ cốc được ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí sau đó để yên trong không khí.

Tốt hơn, nếu hoạt tính -amylaza được xác định theo các phương pháp chuẩn, ví dụ, bằng cách sử dụng bộ kit Ceralpha (K-CERA) từ Megazyme, Ireland. Cụ thể, hoạt tính amylaza có thể được xác định như được mô tả trong ví dụ 2 dưới đây.

Cũng có thể tốt hơn nếu các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có mức hoạt tính β -amylaza đo được thích hợp. Tốt hơn, nếu các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có hoạt tính β -amylaza đo được ít nhất là 5 U/g hạt ngũ cốc (trọng lượng khô). Do đó, tốt hơn nếu các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có thể có hoạt tính β -amylaza đo được ít nhất là 10 U/g, ví dụ ít nhất là 15 U/g hạt ngũ cốc (trọng lượng khô).

Tốt hơn, nếu hoạt tính β -amylaza được xác định theo các phương pháp chuẩn, ví dụ, bằng cách sử dụng bộ kit Betamyl (K-BETA3) từ Megazyme, Ireland. Cụ thể, hoạt tính β -amylaza có thể được xác định như được mô tả trong ví dụ 2 dưới đây.

Cũng tốt hơn nếu các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có mức hoạt tính dextrinaza giới hạn thích hợp. Tốt hơn, nếu các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có hoạt tính dextrinaza giới hạn ít nhất là 5 mU/g hạt ngũ cốc (trọng lượng khô). Do đó, tốt hơn nếu các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có thể có hoạt tính dextrinaza giới hạn ít nhất là 10 mU/g, ví dụ ít nhất là 15 mU/g, như ít nhất là 20 mU/g hạt ngũ cốc (trọng lượng khô). Theo các phương án của sáng chế khi hạt ngũ cốc này là lúa mỳ thì hoạt tính dextrinaza giới hạn có thể ít nhất là 8 U/g. Theo một số phương án của sáng chế,

hạt ngũ cốc này có thể có hoạt tính dextrinaza giới hạn ít nhất là 20 U/g, ví dụ ít nhất là 22 U/g, như ít nhất là 25 U/g hạt ngũ cốc (trọng lượng khô). Cụ thể, đây có thể là một trường hợp trong các phương án khi các hạt ngũ cốc được ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí sau đó để yên trong không khí.

Tốt hơn, nếu hoạt tính dextrinaza giới hạn được xác định theo các phương pháp chuẩn, ví dụ, bằng cách sử dụng bộ kit Limit Dextrizyme T-LDZ1000 từ Megazyme, Ireland. Cụ thể, hoạt tính dextrinaza giới hạn có thể được xác định như được mô tả trong ví dụ 2 dưới đây.

Đáng quan tâm là, các hạt ngũ cốc đã nảy mầm theo sáng chế có lượng rễ con giảm đáng kể so với mạch nha xanh thông thường. Do đó, tốt hơn nếu các hạt ngũ cốc đã nảy mầm theo sáng chế chứa nhiều nhất là 4g rễ con trong 100g lúa mạch đã nảy mầm, tốt hơn nếu nhiều nhất là 3g rễ con trong 100g lúa mạch đã nảy mầm, thậm chí tốt hơn nếu nhiều nhất là 2g rễ con trong 100g lúa mạch đã nảy mầm, ví dụ nhiều nhất là 1,1g rễ con trong 100g lúa mạch đã nảy mầm, trong đó cả khối lượng rễ con và khối lượng lúa mạch đã nảy mầm được cung cấp dưới dạng trọng lượng khô. Tốt hơn, nếu khối lượng của rễ con được xác định như được mô tả trong ví dụ 10 dưới đây.

Nitrosamin (NDMA) là các hợp chất hóa học có cấu trúc hóa học $R^1N(-R^2)-N=O$, nghĩa là, nhóm nitroso liên kết với amin. Hầu hết các nitrosamin gây bệnh ung thư. Mặc dù mức nitrosamin trong các mạch nha hiện đại thấp, tuy nhiên các nhân lúa mạch đã nảy mầm theo sáng chế vẫn có hàm lượng NDMA thấp hơn đáng kể so với mạch nha thông thường. Theo một phương án, các nhân lúa mạch đã nảy mầm theo sáng chế bao gồm nhiều nhất là 0,15 $\mu\text{g/kg}$ NDMA, tốt hơn nếu nhiều nhất là 0,12 $\mu\text{g/kg}$ NDMA, ví dụ nhiều nhất là 0,10 $\mu\text{g/kg}$ NDMA.

Dung dịch nước

Dung dịch nước có thể là dung dịch nước bất kỳ. Dung dịch nước có thể được coi là dung dịch mặc dù hỗn hợp của dung dịch nước và các hạt ngũ cốc có thể được coi là hỗn dịch. Thông thường, dung dịch nước là nước, như nước máy. Một hoặc nhiều chất bổ sung có thể được bổ sung vào nước nêu trên, và do đó dung dịch nước có thể là nước, như nước máy chứa một hoặc nhiều chất bổ sung. Chất

bổ sung này có thể được bao gồm trong dung dịch nước ngay từ thời điểm ban đầu hoặc chúng có thể được bổ sung trong quá trình ủ.

Chất bổ sung này có thể, ví dụ, là các hợp chất có khả năng tăng tốc quá trình nảy mầm của các hạt ngũ cốc. Do đó, dung dịch nước có thể bao gồm axit gibberelic (gibberelic acid - GA), ví dụ dung dịch nước có thể bao gồm GA ở nồng độ thấp nhất là 100 nM, ví dụ ở nồng độ thấp nhất là 1000 nM, như ở nồng độ nằm trong khoảng từ 100 đến 100.000 nM, ví dụ ở nồng độ nằm trong khoảng từ 500 đến 2000 nM. GA này có thể có mặt trong dung dịch nước ngay từ khi bắt đầu ủ, hoặc nó có thể được bổ sung trong khi ủ. GA này có thể là GA bất kỳ, ví dụ, GA₃ hoặc GA₇. Theo một phương án, GA nêu trên là GA₃.

Chất bổ sung này cũng có thể là chất chống tạo bọt. Chất chống tạo bọt này có thể ví dụ là chất chống tạo bọt bất kỳ loại dùng cho thực phẩm, ví dụ Foamzol FCD511 (AB Vickers, UK).

Thiết bị

Phương pháp theo sáng chế có thể được tiến hành sử dụng một hoặc nhiều thiết bị thích hợp cho việc thực hiện phương pháp này.

Ví dụ, bước ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước có thể được tiến hành trong vật chứa được trang bị một hoặc nhiều bơm không khí. Vật chứa có thể là vật chứa bất kỳ trong đó các hạt ngũ cốc có thể được ủ trong dung dịch nước. Theo một số phương án, vật chứa có thể là thùng chứa, ví dụ, thùng chứa như được mô tả dưới đây.

Một ví dụ về thiết bị thích hợp dùng để ủ các hạt ngũ cốc được cung cấp trên Fig.8. Thiết bị này bao gồm thùng chứa 2, mà nên có đủ thể tích để chứa các hạt ngũ cốc và dung dịch nước. Thùng chứa được thể hiện trên Fig.8 có dạng hình trụ, nhưng thùng chứa được sử dụng theo sáng chế có thể có hình dáng bất kỳ thích hợp, ví dụ nó có thể là thùng chứa hình trụ, ví dụ thùng chứa hình trụ có phần đáy dạng nón. Thùng chứa này có thể được làm từ vật liệu bất kỳ thích hợp, ví dụ, nhựa (như Plexiglas) hoặc kim loại (ví dụ, thép không gỉ hoặc đồng).

Thùng chứa này bao gồm ít nhất là một cửa nạp 1 cho các hạt ngũ cốc, mà có thể được sử dụng để bổ sung các hạt ngũ cốc vào thùng chứa. Cửa nạp này cũng có

thể được sử dụng để bổ sung các hợp chất khác vào thùng chứa này, ví dụ, cửa nạp này có thể được sử dụng để bổ sung dung dịch nước, ví dụ nước. Cửa nạp này có thể được bố trí ở vị trí bất kỳ thích hợp trong thùng chứa, và theo một số phương án cửa nạp này được bố trí ở phần trên của thùng chứa, ví dụ, ở đỉnh của thùng chứa. Cửa nạp này nên có kích thước đủ để cho phép bổ sung các hạt ngũ cốc. Mặc dù không yêu cầu nhưng thùng chứa này có thể bao gồm các cửa nạp bổ sung ngoài cửa nạp cho các hạt ngũ cốc.

Thùng chứa nêu trên có thể tùy ý bao gồm lưới hoặc sàng 3 được bố trí về cơ bản nằm ngang trong thùng chứa này. Nếu có mặt, lưới hoặc sàng như vậy thường được bố trí ở độ cao 1/3 phía dưới, như ở độ cao 1/5 phía dưới của thùng chứa. Tốt hơn, nếu lưới hoặc sàng chỉ chứa các lỗ hổng, nhỏ hơn các hạt ngũ cốc. Lưới hoặc sàng này có thể làm từ vật liệu bất kỳ thích hợp, như nhựa hoặc kim loại, và có thể ví dụ là sàng kim loại. Do đó, lưới hoặc sàng này có thể được sử dụng để tách các hạt ngũ cốc ra khỏi phần đáy của thùng chứa. Tuy nhiên, thùng chứa sẽ thường không bao gồm sàng. Cụ thể, nếu thùng chứa bao gồm cửa tháo hạt ngũ cốc ở đáy hoặc gần đáy, thì thùng chứa này thường không bao gồm lưới hoặc sàng.

Ngoài ra, thùng chứa bao gồm một hoặc nhiều cửa nạp khí 4. Các cửa nạp này có thể là cửa nạp bất kỳ mà qua đó khí chứa O_2 có thể được đưa vào thùng chứa này. Cửa nạp khí này có thể có hình dáng, mà cho phép khí đi vào dung dịch nước ở tốc độ cao, đảm bảo việc khuếch tán khí này vào dung dịch nước. Do đó, ví dụ cửa nạp khí có thể là vòi phun, ống phun tia, các đá khuếch tán hoặc đá thiêu kết. Theo một phương án, cửa nạp khí là đá thiêu kết. Cửa nạp khí thường nối với bơm 5, mà bơm khí vào thùng chứa, qua các cửa nạp này. Bơm này có thể là bơm bất kỳ có khả năng bơm khí, ví dụ, không khí qua cửa nạp khí. Tốt hơn, nếu thùng chứa bao gồm nhiều cửa nạp khí, ví dụ, ít nhất là 2, như ít nhất là 3, ví dụ nằm trong khoảng từ 3 đến 20. Cửa nạp khí có thể được bố trí ở vị trí bất kỳ trong thùng chứa, nhưng thông thường, chúng được bố trí ở độ cao 1/3 phía đáy, như ở độ cao 1/5 phía đáy của thùng chứa này. Các vị trí này cho phép khí đi vào dung dịch nước từ đáy và khuếch tán lên phía trên qua dung dịch nước. Khí dư có thể rời khỏi thùng chứa qua cửa bất kỳ trong thùng chứa, ví dụ, qua cửa nạp dùng để bổ sung

các loại ngũ cốc. Theo một phương án, có thể tốt hơn nếu các cửa nạp 3 được bố trí trực tiếp trên các thành bên của thùng chứa 2, tốt hơn nếu trên phần dưới của các thành bên, ví dụ, như được thể hiện trên Fig.1.

Một ví dụ về thiết bị thích hợp dùng để thực hiện một vài bước của phương pháp theo sáng chế được thể hiện trên Fig.1. Thiết bị này bao gồm cửa nạp hạt ngũ cốc 1, thùng chứa 2, (các) cửa nạp khí 3 và bơm 4, chúng có thể là một trong số cửa nạp hạt ngũ cốc, thùng chứa, cửa nạp khí và bơm bất kỳ được mô tả trên đây trên Fig.8. Thùng chứa 2 có thể bao gồm cửa tháo hạt ngũ cốc 5 được bố trí ở độ cao 1/3 phía dưới, như ở độ cao 1/5 phía dưới của thùng chứa, ví dụ, được bố trí ở đáy thùng chứa. Cửa tháo này có thể được sử dụng để vừa loại bỏ các hạt ngũ cốc vừa để loại bỏ các thành phần khác còn lại trong thùng chứa, ví dụ, dung dịch nước. Cửa tháo này có thể nối với bơm cấp hạt 6, ví dụ, thông qua ống. Bơm cấp hạt 6 có thể là bơm bất kỳ có khả năng bơm các hạt từ thùng chứa 2 vào thiết bị dùng để nghiền mịn các hạt ngũ cốc 7 và tùy ý còn bơm vào bình ngâm ủ 9.

Thiết bị nêu trên bao gồm thiết bị dùng để nghiền mịn các hạt ngũ cốc 7. Thiết bị này có thể là thiết bị bất kỳ có khả năng nghiền mịn các hạt ngũ cốc có hàm lượng nước lớn hơn 20%, ví dụ lớn hơn 35%. Thiết bị này có thể cụ thể là máy xay hoặc máy nghiền, ví dụ máy nghiền ướt. Thiết bị 7 có thể nối với thùng chứa 2 và bình chứa 9 bằng (các) ống. Việc di chuyển các hạt từ thùng chứa 2 tới thiết bị 7 và cũng tới bình chứa 9 có thể được thực hiện bằng bơm 6.

Thiết bị nêu trên cũng có thể bao gồm bình chứa 9. Bình chứa 9 có thể là bình bất kỳ, có thể chứa nước chiết và có thể chịu được nhiệt độ được sử dụng để ngâm ủ, ví dụ, nhiệt độ lên tới 90°C, như lên tới 85°C, ví dụ lên tới 80°C. Do đó, bình này có thể được làm từ vật liệu bất kỳ chịu được nhiệt độ này, ví dụ, kim loại, như thép không gỉ hoặc đồng. Bình này có thể có hình dáng thích hợp bất kỳ, ví dụ, về cơ bản nó có thể có dạng hình trụ. Bình này có thể được gắn thiết bị kiểm soát nhiệt độ. Bình này có thể được sử dụng để tạo ra nước chiết của các hạt ngũ cốc đã nghiền nhỏ thông qua quy trình bao gồm bước ủ ở một hoặc nhiều nhiệt độ định trước như được mô tả ở đây trong phần "Chuẩn bị nước chiết". Thiết bị dùng để kiểm soát nhiệt độ có khả năng kiểm soát nhiệt độ của chất lỏng trong bình, bao

gồm có khả năng gia nhiệt chất lỏng trong bình đến nhiệt độ định trước, ví dụ, đến nhiệt độ bất kỳ được mô tả ở đây trong phần "Chuẩn bị nước chiết". Bình chứa 9 cũng có thể bao gồm thiết bị để khuấy hoặc quay chất lỏng bất kỳ chứa trong bình này. Cụ thể, bình chứa 9 có thể là bình ngâm ủ. Các bình ngâm ủ là đã biết trong tình trạng kỹ thuật này, và bình chứa 9 có thể là bình ngâm ủ thông thường bất kỳ.

Bình chứa 9, thường, bao gồm cửa nạp 8, qua đó các hạt ngũ cốc đã nảy mầm đã nghiền nhỏ có thể đi vào bình. Cửa nạp 8 nêu trên thường được bố trí ở nửa trên của bình, ví dụ, ở độ cao 1/3 phía trên, như ở độ cao 1/5 phía trên của bình, ví dụ ở đỉnh của bình. Các hạt ngũ cốc đã nghiền nhỏ có thể được dẫn qua ống từ thiết bị dùng để nghiền mịn các hạt ngũ cốc 7 đến cửa nạp 8 của bình chứa 9.

Thông thường, bình chứa 9 cũng bao gồm cửa tháo 10, qua đó nước chiết có thể đi ra khỏi bình này sau khi tạo ra nước chiết (xem chi tiết về nước chiết dưới đây trong các phần "Nước chiết" và "Chuẩn bị nước chiết"). Cửa tháo thường được bố trí trong nửa dưới, ví dụ ở độ cao 1/3 phía dưới, như ở độ cao 1/5 phía dưới của bình này, ví dụ ở đáy bình.

Nghiền mịn hạt ngũ cốc đã nảy mầm

Phương pháp theo sáng chế bao gồm bước nghiền mịn các hạt ngũ cốc đã nảy mầm bằng cách ủ trong dung dịch nước trong điều kiện sục khí.

Ở thời điểm mà các hạt ngũ cốc được nghiền mịn, tốt hơn nếu chúng vẫn có hàm lượng nước cao, tốt hơn nếu các hạt ngũ cốc nêu trên có hàm lượng nước thấp nhất là 20%, tốt hơn nữa nếu thấp nhất là 25%, thậm chí tốt hơn nữa nếu thấp nhất là 30%, còn tốt hơn nữa nếu thấp nhất là 35%. Ví dụ, các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có thể được chuyển trực tiếp từ bước ủ trong dung dịch nước nêu trên sang thiết bị dùng để nghiền mịn các hạt ngũ cốc. Do đó, các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có thể có cùng hàm lượng nước ở thời điểm được nghiền mịn như các hạt ngũ cốc có ngay sau khi ủ các hạt ngũ cốc trong dung dịch nước, ví dụ hàm lượng nước được mô tả trên đây trong phần "Nảy mầm". Cụ thể, phương pháp này thường không bao gồm bước sấy khô các hạt ngũ cốc đã nảy mầm bằng cách tăng nhiệt độ. Tốt hơn, nếu các hạt ngũ cốc đã nảy mầm không có hàm lượng nước nhỏ hơn 20%, tốt hơn nếu không nhỏ hơn 25%, thậm chí tốt hơn nếu không nhỏ hơn 30%, tốt hơn nữa nếu

không nhỏ hơn 35% ở thời điểm bất kỳ sau khi nảy mầm và trước khi nghiền mịn các hạt ngũ cốc này. Do đó, phương pháp này tốt hơn nếu không bao gồm bước sấy khô các hạt ngũ cốc đã nảy mầm trong lò sấy.

Các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có thể được nghiền mịn sử dụng thiết bị bất kỳ thích hợp để nghiền mịn các hạt ngũ cốc có hàm lượng nước lớn hơn 20%, như lớn hơn 25%, ví dụ lớn hơn 30%, như lớn hơn 35%. Ví dụ, các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có thể được nghiền, ví dụ nghiền ướt. Các máy nghiền thích hợp để nghiền các hạt ngũ cốc đã nảy mầm bao gồm các máy nghiền có sẵn từ Millstar, USA. Các hạt ngũ cốc đã nảy mầm cũng có thể được xay mịn.

Thông thường, các hạt ngũ cốc được nghiền mịn đến mức độ sao cho nước chiết của các đường lên men được của các hạt ngũ cốc có thể được tạo ra. Do đó, các hạt ngũ cốc được nghiền đến mức thích hợp, sao cho 7l nước chiết từ 1 kg các hạt ngũ cốc được nghiền mịn có trọng lượng riêng nhỏ nhất là 8°Plato.

Theo các phương án của sáng chế, trong đó nước chiết được tạo ra từ các hạt ngũ cốc đã nảy mầm và một hoặc nhiều nguyên liệu phụ, nguyên liệu phụ này cũng có thể được nghiền mịn. Cụ thể, đây có thể là trường hợp khi nguyên liệu phụ bao gồm các hạt ngũ cốc chưa nảy mầm. Nguyên liệu phụ nêu trên có thể được nghiền mịn, ví dụ, được nghiền trong các quy trình riêng biệt. Tuy nhiên, cũng bao gồm trong sáng chế là trường hợp nguyên liệu phụ được nghiền mịn cùng với các hạt ngũ cốc đã nảy mầm. Tương tự, nếu nước chiết được tạo ra từ các hạt ngũ cốc đã nảy mầm và mạch nha được sấy khô bằng lò sấy, thì mạch nha được sấy khô bằng lò sấy này có thể được nghiền mịn, ví dụ, được nghiền trong các quy trình riêng biệt. Tuy nhiên, cũng bao gồm trong sáng chế là trường hợp mạch nha được sấy khô bằng lò sấy được nghiền mịn cùng với các hạt ngũ cốc đã nảy mầm.

Chuẩn bị nước chiết

Phương pháp theo sáng chế cũng bao gồm bước tạo ra nước chiết từ các hạt ngũ cốc đã nảy mầm đã nghiền nhỏ. Bước này có thể, ví dụ, là bước ngâm ủ.

Thông thường, nước chiết nêu trên có thể, được chuẩn bị bằng cách ủ các hạt ngũ cốc đã nghiền nhỏ trong nước hoặc trong dung dịch nước. Thông thường, dung dịch nước dùng để tạo ra nước chiết là dung dịch nước khác so với dung dịch nước

được sử dụng để ủ các hạt ngũ cốc trong quá trình nảy mầm.

Để phân biệt, dung dịch nước để tạo ra nước chiết cũng có thể được đề cập là "dung dịch ngâm ủ". Dung dịch ngâm ủ này có thể là dung dịch nước bất kỳ, nhưng nó thường gồm nước, như nước máy có thể được bổ sung một hoặc nhiều chất bổ sung. Để phân biệt giữa các chất bổ sung được bổ sung trong quá trình nảy mầm, các chất bổ sung này có thể được đề cập là "các chất ngâm ủ bổ sung". Do đó, dung dịch ngâm ủ có thể gồm nước (ví dụ, nước máy) được bổ sung một hoặc nhiều chất ngâm ủ bổ sung. Các chất ngâm ủ có thể có mặt trong dung dịch ngâm ủ từ ban đầu hoặc chúng có thể được bổ sung trong quá trình chuẩn bị nước chiết.

Các chất ngâm ủ bổ sung nêu trên có thể là các enzym. Do đó, dung dịch ngâm ủ có thể bao gồm một hoặc nhiều enzym. Các enzym này có thể được bổ sung vào dung dịch ngâm ủ từ ban đầu, hoặc sau đó, trong quá trình ngâm ủ.

Các enzym nêu trên có thể, ví dụ, là một hoặc nhiều enzym thủy phân. Các enzym thích hợp bao gồm các lipaza, các enzym phân cắt tinh bột (ví dụ, amylaza), các glucanaza [tốt hơn là (1-4)- và/hoặc (1,3;1,4)- β -glucanaza], và/hoặc các xylanaza (như các arabinoxylanaza), và/hoặc các proteaza, hoặc hỗn hợp chứa một hoặc nhiều enzym nêu trên, ví dụ, Cereflo, Ultraflo, hoặc Onda Pro (Novozymes). Ví dụ, dung dịch ngâm ủ có thể bao gồm một hoặc nhiều enzym thủy phân trong đó ít nhất một enzym thủy phân được chọn từ nhóm bao gồm -amylaza, β -amylaza, dextrinaza giới hạn, pululanaza, β -glucanaza, xylanaza, glucoamylaza và proteaza.

Theo một phương án của sáng chế, dung dịch ngâm ủ chứa một hoặc nhiều enzym sau đây:

- β -glucanaza, như endo-(1,3;1,4)- β -glucanaza hoặc endo-1,4- β -glucanaza.
- xylanaza, như endo- hoặc exo-1,4-xylanaza, arabinofuranosidaza hoặc esteraza của axit ferulic
- α -amylaza
- pululanaza hoặc dextrinaza giới hạn
- glucoamylaza.

Việc có bổ sung hay không bổ sung các enzym vào dung dịch ngâm ủ, và việc

quyết định nên bổ sung enzym nào, có thể phụ thuộc vào các hạt ngũ cốc được sử dụng. Do đó, theo các phương án của sáng chế, trong đó ngũ cốc là cây lúa mạch có hàm lượng β -glucan thấp (ví dụ, như được mô tả dưới đây trong phần "Lúa mạch"), thì β -glucanaza có thể được bổ sung với lượng ít hoặc không được bổ sung vào dung dịch ngâm ủ.

Theo một phương án được ưu tiên, không có proteaza ngoại sinh nào được bổ sung trong quá trình ngâm ủ. Việc bổ sung proteaza có thể ít được ưu tiên, do các proteaza có thể ảnh hưởng đến hoạt tính của enzym. Theo một phương án được ưu tiên, không có lipaza nào được bổ sung trong quá trình ngâm ủ.

Theo một phương án được ưu tiên, nhiều nhất là 700 U, tốt hơn nếu nhiều nhất là 350U glucoamylaza ngoại sinh trên g hạt ngũ cốc đã nảy mầm (chất khô) được sử dụng trong quá trình chuẩn bị nước chiết.

Theo một phương án được ưu tiên, nhiều nhất là 400 AGU, tốt hơn nếu nhiều nhất là 200 AGU glucoamylaza ngoại sinh trên kg hạt ngũ cốc đã nảy mầm (chất khô) được sử dụng trong quá trình chuẩn bị nước chiết. Việc xác định AGU có thể được tiến hành như được mô tả trong US7060468.

Theo một phương án khác được ưu tiên, glucoamylaza ngoại sinh và α -amylaza kết hợp được sử dụng trong quá trình tạo ra nước chiết không vượt quá 700U, tốt hơn nếu không vượt quá 350U trên g các hạt ngũ cốc đã nảy mầm (chất khô). Hoạt tính glucoamylaza và α -amylaza kết hợp có thể ví dụ được xác định sử dụng K-CERA 01/12 (quy trình và bộ dụng cụ có sẵn từ Megazyme, Ireland).

Theo một phương án được ưu tiên, nhiều nhất là 20 U pululanaza ngoại sinh hoặc dextrinaza giới hạn trên kg các hạt ngũ cốc đã nảy mầm (chất khô) được sử dụng trong quá trình chuẩn bị nước chiết.

Theo một phương án được ưu tiên, nhiều nhất là 100 PUN pululanaza trên kg các hạt ngũ cốc đã nảy mầm (chất khô) được sử dụng trong quá trình chuẩn bị nước chiết. Việc xác định PUN có thể được tiến hành như được mô tả trong US7060468.

Các chất ngâm ủ bổ sung nêu trên cũng có thể nguyên liệu phụ, ví dụ các hạt ngũ cốc chưa nảy mầm, xiro hoặc đường. Nếu nguyên liệu phụ được bổ sung,

chúng cũng có thể được nghiền mịn ví dụ, bằng cách nghiền hoặc xay. Nếu nguyên liệu phụ là hạt ngũ cốc, ví dụ hạt ngũ cốc, chưa nảy mầm, thì nó có thể thường được nghiền mịn hoặc nghiền. Nếu nguyên liệu phụ là xiro, đường hoặc các nguyên liệu tương tự, chúng sẽ thường không được nghiền. Nguyên liệu phụ như đường hoặc xiro có thể được bổ sung vào dung dịch ngâm ủ ở thời điểm bất kỳ trong quy trình; tuy nhiên, nguyên liệu phụ này cũng có thể được bổ sung vào nước chiết hoặc sau đó trong quá trình ngâm ủ để tạo ra đồ uống như được mô tả dưới đây. Thông thường, nguyên liệu phụ này được bổ sung với lượng nhỏ hơn các hạt ngũ cốc đã nảy mầm. Do đó, ít nhất là 50%, tốt hơn nếu ít nhất là 70%, ví dụ ít nhất là 90% hydratecarbon của nước chiết thu được từ các hạt ngũ cốc đã nảy mầm, trong khi đó tốt hơn nếu nguyên liệu phụ chỉ cung cấp phần nhỏ hydratecarbon. Nếu nguyên liệu phụ là hạt ngũ cốc chưa nảy mầm, thì tốt hơn nếu các hạt ngũ cốc đã nảy mầm tạo thành ít nhất là 50% (trọng lượng/trọng lượng), tốt hơn nếu ít nhất là 70% (trọng lượng/trọng lượng), tốt hơn nữa nếu ít nhất là 90% (trọng lượng/trọng lượng) tổng hạt ngũ cốc khi được xác định trên trọng lượng khô.

Các chất ngâm ủ bổ sung cũng có thể mạch nha được sấy khô bằng lò sấy. Nếu mạch nha được sấy khô bằng lò sấy được bổ sung, nó cũng có thể được nghiền mịn ví dụ, bằng cách nghiền hoặc xay. Thông thường, mạch nha được sấy khô bằng lò sấy được bổ sung với lượng nhỏ hơn các hạt ngũ cốc đã nảy mầm. Do đó, các hạt ngũ cốc đã nảy mầm tạo thành ít nhất là 80% (trọng lượng/trọng lượng), tốt hơn nếu ít nhất là 90% (trọng lượng/trọng lượng), tốt hơn nữa nếu ít nhất là 95% (trọng lượng/trọng lượng) tổng hạt ngũ cốc và mạch nha khi được xác định trên trọng lượng khô. Theo các phương án được ưu tiên, mạch nha được sấy khô bằng lò sấy không được bổ sung.

Tốt hơn, nếu các chất ngâm ủ bổ sung nêu trên, có chất lượng phù hợp dùng cho thực phẩm, cũng có thể là muối, ví dụ CaCl_2 .

Các chất ngâm ủ bổ sung nêu trên cũng có thể là axit, tốt hơn là axit loại dùng cho thực phẩm, ví dụ H_3PO_4 .

Nước chiết thường được chuẩn bị bằng cách ủ các hạt ngũ cốc đã nảy mầm và nghiền nhỏ trong dung dịch ngâm ủ ở một hoặc nhiều nhiệt độ định trước. Nhiệt độ

định trước này cũng có thể được đề cập là "nhiệt độ ngâm ủ" ở đây. Nhiệt độ ngâm ủ này có thể ví dụ là nhiệt độ thường được sử dụng để ngâm ủ.

Nhiệt độ ngâm ủ thường được giữ không đổi (ngâm ủ đẳng nhiệt), hoặc tăng dần dần, ví dụ tăng liên tiếp. Trong từng trường hợp, các hợp chất tan trong các hạt ngũ cốc đã nảy mầm đã nghiền nhỏ được giải phóng vào trong dung dịch ngâm ủ nêu trên, theo đó tạo thành nước chiết.

(Các) nhiệt độ ngâm ủ thường là (các) nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30 đến 90°C, như nằm trong khoảng từ 40 đến 85°C, ví dụ nằm trong khoảng từ 50 đến 85°C. Nhiệt độ ngâm ủ có thể được chọn theo loại ngũ cốc được sử dụng. Do đó, theo các phương án của sáng chế, trong đó các hạt ngũ cốc là lúa mạch có mức hoạt tính lipoxigenaza (lipoxigenaza - LOX) và/hoặc hoạt tính metyl metionin transferaza (methyl methionine transferase - MMT) thấp hoặc không có (xem chi tiết dưới đây trong phần "Lúa mạch"), nhiệt độ ngâm ủ có thể thấp hơn, ví dụ nằm trong khoảng từ 35 đến 69°C.

Việc ủ trong dung dịch ngâm ủ có thể được tiến hành trong một khoảng thời gian bất kỳ thích hợp. Thời gian để ủ trong dung dịch ngâm ủ trong bình ngâm ủ có thể, ví dụ nằm trong khoảng từ 60 đến 300 phút, như nằm trong khoảng từ 60 đến 240 phút, ví dụ nằm trong khoảng từ 90 đến 300 phút, như nằm trong khoảng từ 90 đến 240 phút, ví dụ nằm trong khoảng từ 90 đến 270 phút. Ví dụ, thời gian để ủ trong dung dịch ngâm ủ nêu trên có thể thời gian bất kỳ được sử dụng trong việc ngâm ủ thông thường. Một ví dụ không giới hạn về việc ngâm ủ thích hợp là:

- (1) Ngâm ủ ở nhiệt độ khoảng 50-60°C, như khoảng 55°C, trong khoảng từ 10 đến 30 phút, như khoảng 15 phút.
- (2) Gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 70°C, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 60 đến 65°C, như khoảng 62°C, nằm trong khoảng từ 30 đến 90 phút, như khoảng 60 phút.
- (3) Gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 70 đến 75°C, như khoảng 72°C, nằm trong khoảng từ 5 đến 30 phút, như khoảng 15 phút.
- (4) Gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 75 đến 80°C, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 75 đến 78°C, như khoảng 78°C, nằm trong khoảng từ 5 đến 15

phút, như khoảng 10 phút.

Sau khi ủ trong dung dịch ngâm ủ trong bình ngâm ủ, các hạt ngũ cốc đã nảy mầm và nghiền nhỏ trong dung dịch ngâm ủ có thể được chuyển sang vật chứa khác, ví dụ, thùng lọc bã và được ủ trong một khoảng thời gian nữa ở nhiệt độ cao, ví dụ, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 70 đến 78°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 30 đến 120 phút.

Do đó, việc ủ trong dung dịch ngâm ủ có thể, ngoài các bước nêu trên, cũng bao gồm bước (5):

(5) Gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 70 đến 78°C, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 75 đến 78°C, như khoảng 78°C, trong thời gian nằm trong khoảng từ 30 đến 120 phút, như khoảng 60 phút.

Ví dụ không giới hạn về nhiệt độ và thời gian thích hợp ngâm ủ được thể hiện ở đây trên Fig.5. Việc ủ trong khoảng 120 phút đầu có thể ví dụ được thực hiện trong bình ngâm ủ, trong khi đó khoảng thời gian còn lại của quá trình ủ ví dụ có thể được tiến hành trong vật chứa khác. Các ví dụ không giới hạn khác được nêu trong tài liệu chuyên ngành sản xuất bia, ví dụ, trong tài liệu của Briggs và các đồng tác giả (ở trên) và Hough và các đồng tác giả (ở trên).

Sau khi ủ trong dung dịch ngâm ủ, nước chiết có thể thường được tách, ví dụ, thông qua việc lọc, thành nước chiết và các phần tử rắn không tan còn lại, các phần tử rắn không tan này cũng được biểu thị bằng "hạt bã". Việc lọc có thể ví dụ được thực hiện trong thùng lọc bã. Theo cách khác, việc lọc có thể là lọc qua bộ lọc ngâm ủ. Do đó, nước chiết thu được cũng có thể được biểu thị bằng "dịch hèm lần đầu".

Chất lỏng bổ sung, như nước có thể được bổ sung vào các hạt bã trong một quy trình cũng được biểu thị bằng "vẩy nước". Sau khi vẩy nước và lọc, "dịch hèm lần hai" có thể thu được. Các dịch hèm lần khác có thể được tạo ra bằng cách lặp lại quy trình trên.

Do đó, nước chiết có thể là dịch hèm, ví dụ, dịch hèm lần đầu, dịch hèm lần thứ hai, dịch hèm lần khác hoặc hỗn hợp của chúng.

Nước chiết

Nước chiết thu được bằng phương pháp theo sáng chế có thể có một số đặc điểm hữu ích, bao gồm nhưng không giới hạn ở các đặc điểm được mô tả trong phần này.

Như nêu trên, nước chiết có thể được cho trải qua bước lọc. Do đó, có thể tốt hơn nếu dịch hèm có khả năng lọc tốt. Ví dụ, đây có thể là thử thách kỹ thuật khi lọc các chất lỏng có độ nhớt cao – một lý do mà tốt hơn nếu nước chiết có độ nhớt thấp.

Khả năng lọc có thể được xác định theo một số cách. Theo một phương án, khả năng lọc được xác định là lượng chất lỏng thu được sau khi lọc qua phễu lọc được trang bị giấy lọc trong 1 giờ. Tốt hơn, nếu nước chiết có khả năng lọc ít nhất là 250 ml, khi 400 ml dung dịch ngâm ủ chứa 100g các hạt ngũ cốc được nghiền mịn được bổ sung vào phễu lọc nêu trên. Khả năng lọc cũng có thể được xác định là phần trăm thể tích của chất lỏng thu được sau lọc trong 60 phút như đã mô tả ở trên so với thể tích của lỏng của nước chiết được bổ sung vào phễu nêu trên. Do đó, khả năng lọc có thể thấp nhất là 50%, như thấp nhất là 60% (thể tích/thể tích). Cụ thể, khả năng lọc có thể được xác định như được mô tả dưới đây trong Ví dụ 3.

Khả năng lọc có thể thường phụ thuộc vào mức β -glucan. Do đó, có thể tốt hơn nếu mức β -glucan không quá cao. Ví dụ nước chiết có thể bao gồm nhiều nhất là 200 mg/l, tốt hơn nếu nhiều nhất là 150mg/l β -glucan.

Cũng tốt hơn nếu nước chiết bao gồm lượng thích hợp đường có thể lên men. Cụ thể, có thể tốt hơn nếu nước chiết bao gồm ít nhất là 10 g, như ít nhất là 15g maltoza trên l. Ví dụ, có thể tốt hơn nếu nước chiết bao gồm ít nhất là 1 g/l trên ° Plato maltoza. Cũng có thể tốt hơn nếu nước chiết bao gồm ít nhất là 1 g, như ít nhất là 2g glucoza trên l.

Thông thường, dịch hèm được mong muốn là chứa nitơ amin tự do (free amino nitrogen - FAN) ở các mức mà đủ cao để làm cho nấm men có khả năng sống tốt, trong khi đó các mức rất cao có thể không được mong muốn. Do đó, có thể tốt hơn nếu nước chiết chứa FAN với lượng nằm trong khoảng từ 150 đến 400 mg/l, như nằm trong khoảng từ 150 đến 300 mg/l, ví dụ nằm trong khoảng từ 150 đến 250 mg/l.

Thông thường, dịch hèm được mong muốn là chứa mức cao axit amin valin, do điều này có thể làm giảm khả năng tạo thành diacetyl không mong muốn. Do đó, có thể tốt hơn nếu nước chiết chứa ít nhất là 55 mg/l, ví dụ ít nhất là 60 mg/l valin. Theo một phương án, nước chiết chứa ít nhất là 65 mg/l valin.

Tốt hơn, nếu các mức đường, FAN và axit amin nêu trên là các mức trong nước chiết trước khi có quá trình lên men bất kỳ.

Sản xuất các đồ uống

Theo một số phương án, phương pháp theo sáng chế cũng bao gồm bước xử lý nước chiết thu được bằng phương pháp theo sáng chế thành đồ uống.

Nước chiết có thể được đun sôi với hoa bia hoặc không mà sau đó nó có thể được đề cập là dịch hèm đã đun sôi.

Các dịch hèm lần đầu, lần thứ hai và các lần khác có thể được kết hợp, và sau đó được gia nhiệt hoặc đun sôi. Nước chiết có thể được gia nhiệt hoặc đun sôi trong khoảng thời gian bất kỳ, ví dụ, nằm trong khoảng từ 60 phút đến 120 phút. Trong khi gia nhiệt hoặc đun sôi, thể tích của nước chiết có thể giảm xuống do bay hơi. Có thể tốt hơn nếu thể tích của nước chiết giảm xuống nhỏ hơn 8%, tốt hơn là nhỏ hơn 5%. Điều này có thể làm giảm đáng kể năng lượng tiêu thụ.

Đồ uống có thể thu được bằng cách lên men nước chiết, ví dụ, bằng cách lên men dịch hèm. Do đó, đồ uống có thể thu được bằng lên men nước chiết bằng nấm men.

Theo một phương án, đồ uống có thể là đồ uống có cồn, như bia. Trong các phương án khác, đồ uống có thể là đồ uống không cồn chế biến từ các hạt ngũ cốc đã nảy mầm. Đồ uống không cồn, có thể ví dụ bia không cồn hoặc các loại đồ uống không cồn khác, như maltina (đồ uống từ mạch nha).

Theo một phương án được ưu tiên, đồ uống là bia, ví dụ bia có thể là bia lager (bia nhẹ) hoặc bia ale. Do đó, bia có thể ví dụ được chọn từ nhóm bao gồm Altbier, Amber ale, rượu lúa mạch, Berliner weisse, Bière de Garde, Bitter, Blonde Ale, Bock, Brown ale, California Common, Cream Ale, Dortmunder Export, Doppelbock, Dunkel, Dunkelweizen, Eisbock, Fruit lambic, Golden Ale, Gose, Gueuze, Hefeweizen, Helles, India pale ale, Kölsch, Lambic, Light ale, Maibock,

ruợu mạch nha\, Mild, Märzenbier, Old ale, Oud bruin, Pale ale, Pilsener, Porter, Red ale, Roggenbier, Saison, Scotch ale, bia Steam, Stout, Schwarzbier, lager, Witbier, Weissbier và Weizenbock. Nước chiết theo sáng chế được tạo ra từ các hạt ngũ cốc đã nảy mầm, mà không được sấy khô bằng lò sấy. Các hạt ngũ cốc đã nảy mầm, mà không được sấy khô bằng lò sấy, thường có màu sáng hơn, và do đó, phương pháp theo sáng chế đặc biệt thích hợp dùng để sản xuất các loại bia nhẹ hơn, cụ thể để sản xuất bia lager. Các loại bia tối màu hơn cũng có thể thu được bằng phương pháp theo sáng chế, ví dụ, bằng cách bổ sung một hoặc nhiều mạch nha đã sấy khô bằng lò sấy trong quá trình ngâm ủ như được mô tả trong phần “Sản xuất các đồ uống”.

Do đó, sáng chế cũng đề cập đến phương pháp sản xuất đồ uống bao gồm các bước:

- tạo ra nước chiết bằng phương pháp theo sáng chế.
- xử lý nước chiết này thành đồ uống.

Các đồ uống có cồn như bia theo phương pháp theo sáng chế có thể được sản xuất từ các hạt ngũ cốc đã nảy mầm. Các hạt ngũ cốc đã nảy mầm, ngoài hoa bia và nấm men, cũng góp phần tạo ra hương vị và màu sắc cho bia.

Ngay sau khi thu được nước chiết, nước chiết này có thể được xử lý thành bia bằng phương pháp bất kỳ bao gồm các phương pháp sản xuất bia thông thường. Các phần mô tả không giới hạn về các ví dụ về phương pháp để sản xuất bia có thể được trình bày, ví dụ, trong các ấn phẩm của Briggs và các đồng tác giả (1981) và Hough và các đồng tác giả (1982). Rất nhiều phương pháp được cập nhật đều đặn dùng để phân tích lúa mạch và các sản phẩm bia đã có sẵn, ví dụ, nhưng không giới hạn ở, American Association of Cereal Chemists (1995), American Society of Brewing Chemists (1992), European Brewery Convention (1998), và Institute of Brewing (1997). Đã nhận thấy rằng nhiều quy trình cụ thể được sử dụng cho một nhà máy sản xuất bia nhất định, với phần lớn các thay đổi lớn đều liên quan đến sở thích tiêu dùng địa phương. Phương pháp sản xuất bia bất kỳ này có thể được sử dụng cùng với sáng chế.

Tốt hơn, nếu bước đầu tiên để sản xuất bia từ nước chiết bao gồm việc gia nhiệt nước chiết như được mô tả trên đây, tiếp theo là giai đoạn làm nguội sau đó và tùy ý là giai đoạn lắng xoáy và để yên. Một hoặc nhiều hợp chất bổ sung có thể được bổ sung vào nước chiết, ví dụ, một hoặc nhiều hợp chất bổ sung được mô tả dưới đây trong phần “Các hợp chất bổ sung”. Sau khi được làm nguội, nước chiết có thể được chuyển đến các thùng lên men chứa nấm men, ví dụ, nấm men dùng để sản xuất bia, như *S. pastorianus* hoặc *S. cerevisiae*. Nước chiết có thể được lên men trong khoảng thời gian bất kỳ thích hợp, thường nằm trong khoảng từ 1 đến 20, như 1 đến 10 ngày. Quá trình lên men được tiến hành ở nhiệt độ bất kỳ thích hợp ví dụ, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10 đến 20°C. Phương pháp này cũng có thể bao gồm việc bổ sung một hoặc nhiều enzym, ví dụ, một hoặc nhiều enzym có thể được bổ sung vào dịch hèm trước khi hoặc trong khi lên men. Cụ thể, enzyme nêu trên có thể là endoproteaza đặc hiệu prolin. Ví dụ không giới hạn về endoproteaza đặc hiệu prolin là “Brewer’s Clarex”, có sẵn từ DSM. Trong các phương án khác, các enzym ngoại sinh không được bổ sung vào trong quy trình này.

Trong quá trình lên men kéo dài vài ngày, đường được chuyển hóa thành rượu và CO₂ đồng thời với việc tạo ra một vài hợp chất tạo hương vị. Quá trình lên men có thể kết thúc ở thời điểm mong muốn, ví dụ, ngay khi không quan sát thấy hiện tượng giảm %P thêm nữa.

Sau đó, bia này có thể được xử lý tiếp, ví dụ làm lạnh. Nó cũng có thể được lọc và/hoặc làm chín một quy trình để phát triển hương thơm dễ chịu và hương vị như nấm men ít hơn. Các chất phụ gia cũng có thể được bổ sung vào. Ngoài ra, CO₂ có thể được bổ sung. Cuối cùng, bia này có thể được thanh trùng và/hoặc lọc, trước khi nó được đóng gói (ví dụ, chuyển vào các vật chứa hoặc thùng chứa, đóng chai hoặc đóng lon). Bia này cũng có thể được thanh trùng theo các phương pháp chuẩn.

Bia được sản xuất bằng phương pháp theo sáng chế thường có vị dễ chịu, và không có hoặc có ít vị chát. Vị có thể được phân tích, ví dụ, bằng hội đồng đánh giá vị bia.

Lúa mạch

Theo các phương án được ưu tiên của sáng chế, các hạt ngũ cốc được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế là các hạt lúa mạch.

Các hạt này có thể là các hạt thuộc cây lúa mạch bất kỳ. Tuy nhiên, theo một số phương án, cây lúa mạch này có thể bao gồm một hoặc nhiều đặc điểm đặc biệt, ví dụ, một hoặc nhiều đặc điểm như được mô tả dưới đây. Mặc dù các đặc điểm khác nhau được thảo luận đơn lẻ dưới đây, nhưng cây lúa mạch theo sáng chế có thể có tổ hợp các đặc điểm này.

Theo một phương án của sáng chế, lúa mạch có thể là giống lúa mạch không có vỏ (variety - var.). Cũng bao gồm trong sáng chế là trường hợp lúa mạch là giống lúa mạch có vỏ mỏng tự nhiên như var. Admiral. Ví dụ, vỏ này có thể chiếm ít hơn 7% tổng trọng lượng của hạt và vỏ.

Như nêu trên, tốt hơn nếu nước chiết thu được trong quá trình ngâm ủ có độ nhớt đủ thấp để tạo ra khả năng lọc tốt cho hỗn hợp ngâm ủ. Như cũng đã được mô tả chi tiết ở trên, các β -glucan tan có thể góp phần tạo ra độ nhớt cao cho nước chiết. Do đó, theo một số phương án của sáng chế, có thể tốt hơn nếu sử dụng cây ngũ cốc và cụ thể cây lúa mạch có mức β glucan thấp, ví dụ, không có β glucan, như mức β -glucan thấp hơn mức phát hiện. Các cây lúa mạch này là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm, ví dụ, các cây lúa mạch mang các đột biến ở gen mã hóa enzym tổng hợp β -glucan. Gen này có thể là gen mã hóa polypeptit có trình tự SEQ ID NO:2 được nêu trong US2012/0030784. Ví dụ, cây lúa mạch có thể là cây lúa mạch mang gen thiếu hụt β -glucan như được nêu trong SEQ ID NO:1 hoặc SEQ ID NO:18 của US2012/0030784. Cây lúa mạch cũng có thể cây lúa mạch mang gen CslF6 bị câm, dẫn đến các hạt lúa mạch này có mức (1,3;1,4)- β -glucan rất thấp (như được mô tả bởi Taketa và các đồng tác giả, 2011).

Cây lúa mạch cũng có thể là cây lúa mạch có mức hoạt tính LOX thấp. Các cây lúa mạch này là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật, và bao gồm, ví dụ, các cây lúa mạch mang đột biến trong gen mã hóa LOX-1. Ví dụ, cây lúa mạch có thể là cây lúa mạch mang đột biến bất kỳ trong gen LOX-1 được mô tả trong WO 02/053721, WO 2005/087934 và WO 2004/085652.

Cây lúa mạch cũng có thể là cây lúa mạch mang đột biến trong gen mã hóa lipoxygenaza 1 (LOX-1) và/hoặc trong gen mã hóa LOX-2. Ví dụ, cây lúa mạch có thể là cây lúa mạch mang đột biến bất kỳ trong các gen LOX-1 và LOX2 được mô tả trong WO 2010/075860.

Cây lúa mạch cũng có thể là cây lúa mạch có mức hoạt tính MMT thấp. Các cây lúa mạch này là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật và bao gồm, ví dụ, các cây lúa mạch mang đột biến trong gen mã hóa MMT. Cụ thể, cây lúa mạch có thể là cây lúa mạch mang đột biến bất kỳ trong gen MMT được mô tả trong WO 2010/063288. Cây lúa mạch cũng có thể là cây lúa mạch bất kỳ được mô tả trong WO 2011/150933.

Cây lúa mạch cũng có thể là cây lúa mạch đặc trưng bởi quá trình truyền tín hiệu GA tăng. Cụ thể, cây lúa mạch có thể là cây lúa mạch mang đột biến trong gen *Slender1*, mà mã hóa protein DELLA. Ví dụ, cây lúa mạch có thể là cây lúa mạch mang đột biến bất kỳ được mô tả trong tài liệu: Chandler và các đồng tác giả, *Journal of Experimental Botany*, quyển 64, số 6, trang 1603–1613, 2013, doi:10.1093/jxb/ert022, ví dụ, trong Bảng 1 ở đây. Ví dụ, cây lúa mạch có thể mang đột biến trong gen *Slender1* dẫn tới gen *Slender1* đột biến mã hóa protein DELLA đột biến, trong đó protein DELLA đột biến này mang đột biến ở một hoặc nhiều axit amin số 46, 490, 280, 268, 271, 277, 231, 481, 282, 277, 227, 485 hoặc 237, ví dụ đột biến được chọn từ nhóm gồm G46E, S490F, R268H, G271D, A277T, V231M, R481H, V282F, A277T, G227E, S485F và C237Y. Việc đánh số axit amin nêu trên được thực hiện dựa trên trình tự protein DELLA có sẵn với số truy cập ngân hàng gen là AK372064 hoặc AF035820 (phiên bản có hiệu lực từ ngày 4 tháng 2 năm 2013).

Đồ uống

Các đồ uống thu được bằng xử lý nước chiết theo sáng chế thành đồ uống có thể có một số tính chất hữu ích, bao gồm nhưng không giới hạn ở các tính chất được mô tả trong phần này.

Thông thường các đồ uống theo sáng chế được mong muốn là chứa diacetyl ít nhất có thể. Do đó, có thể tốt hơn nếu đồ uống bao gồm diacetyl ở mức, mà thấp hơn ngưỡng được coi là hương vị lạ trong bia lager. Tốt hơn, nếu đồ uống này bao

gồm nhiều nhất là 30 ppb (phần tỷ – part per billion) diaxetyl, tốt hơn nếu nhiều nhất là 25 ppb diaxetyl, thậm chí tốt hơn nếu nhiều nhất là 20 ppb diaxetyl. Cụ thể, đây là trường hợp khi đồ uống là bia, ví dụ bia lager.

Đồ uống theo sáng chế có thể ví dụ là nước chiết như được mô tả trong bản mô tả này, mà tùy ý đã được lên men. Do đó, đồ uống này có thể bao gồm hoặc gồm nước chiết hoặc nước chiết đã lên men và tùy ý một hoặc nhiều hợp chất bổ sung. Các hợp chất bổ sung này có thể ví dụ là hợp chất bổ sung bất kỳ được mô tả dưới đây trong phần “Hợp chất bổ sung”.

Hợp chất bổ sung

Phương pháp theo sáng chế có thể bao gồm bước bổ sung một hoặc nhiều hợp chất bổ sung. Các hợp chất bổ sung này có thể ví dụ là hợp chất tạo hương vị, chất bảo quản, thành phần chức năng, chất tạo màu, chất làm ngọt, chất điều hòa độ pH hoặc muối. Chất điều hòa độ pH có thể ví dụ là đệm hoặc axit, như axit phosphoric.

Các thành phần chức năng có thể là thành phần bất kỳ được bổ sung vào để thu được một chức năng nhất định. Tốt hơn, nếu thành phần chức năng làm cho đồ uống bổ dưỡng hơn. Các ví dụ không giới hạn về các thành phần chức năng bao gồm các vitamin hoặc các khoáng chất.

Chất bảo quản có thể là chất bảo quản bất kỳ loại dùng cho thực phẩm, ví dụ nó có thể là axit benzoic, axit sorbic, các sorbat (ví dụ, natri sorbat), các sulphit và/hoặc muối của chúng.

Các hợp chất bổ sung cũng có thể là CO₂. Cụ thể, CO₂ có thể được bổ sung vào để thu được đồ uống được cacbonat hóa (đồ uống được tạo ga).

Hợp chất tạo hương vị được sử dụng trong sáng chế có thể là hợp chất tạo hương vị bất kỳ thích hợp. Hợp chất tạo hương vị có thể ví dụ được chọn từ nhóm bao gồm các chất có hương thơm, chất chiết thực vật, sản phẩm cô đặc từ thực vật, các bộ phận của thực vật và dịch ngâm thảo mộc. Cụ thể, các hợp chất tạo hương vị có thể là hoa bia.

Các mục

Sáng chế có thể còn được mô tả bằng cách mục sau:

- Phương pháp tạo ra nước chiết ngũ cốc, phương pháp này bao gồm các bước:
 - cung cấp các hạt ngũ cốc;
 - ủ các hạt này trong dung dịch nước cho đến khi các hạt có hàm lượng nước thấp nhất là 35%, trong đó ít nhất là 2l O₂ trên kg trọng lượng khô các hạt ngũ cốc trên giờ được cho đi qua dung dịch nước nêu trên, nhờ đó tạo ra các hạt ngũ cốc nảy mầm;
 - nghiền mịn các hạt đã nảy mầm này, trong khi đó các hạt đã nảy mầm này có hàm lượng nước thấp nhất là 35%;
 - tạo ra nước chiết từ các hạt đã nảy mầm đã nghiền nêu trên, nhờ đó tạo ra nước chiết ngũ cốc.
- Phương pháp tạo ra nước chiết ngũ cốc, phương pháp này bao gồm các bước:
 - cung cấp các hạt ngũ cốc;
 - cho các hạt ngũ cốc trải qua bước nảy mầm, nhờ đó thu được các hạt đã nảy mầm, trong đó bước nảy mầm này bao gồm việc ủ các hạt nêu trên trong dung dịch nước cho đến khi các hạt có hàm lượng nước thấp nhất là 30%, trong đó ít nhất là 2l O₂ trên kg trọng lượng khô các hạt ngũ cốc trên giờ được cho đi qua dung dịch nước nêu trên;
 - nghiền mịn các hạt đã nảy mầm nêu trên, trong khi đó các hạt đã nảy mầm này có hàm lượng nước thấp nhất là 20%; với điều kiện là các hạt ngũ cốc nêu trên không có hàm lượng nước dưới 20% ở thời điểm bất kỳ giữa các bước b) và c),
 - tạo ra nước chiết từ các hạt đã nảy mầm và nghiền nêu trên, nhờ đó tạo ra nước chiết ngũ cốc.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt được ủ trong dung dịch nước trong thời gian nằm trong khoảng từ 20 đến 72 giờ.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt ngũ

cốc được ngâm trong dung dịch nước trong toàn bộ bước nảy mầm.

- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt ngũ cốc được ngâm trong dung dịch nước, trong đó ít nhất là 2l O₂ trên kg trọng lượng khô các hạt ngũ cốc trên giờ được cho đi qua dung dịch nước nêu trên trong thời gian nằm trong khoảng từ 24 đến 60 giờ, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 40 đến 55 giờ.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 3, trong đó bước nảy mầm bao gồm
 - ít nhất là một bước ủ các hạt trong dung dịch nước, trong đó ít nhất là 2l O₂ trên kg trọng lượng khô các hạt ngũ cốc trên giờ được cho đi qua dung dịch nước nêu trên; và
 - ít nhất là một bước ủ các hạt ngũ cốc trong không khí.
- Phương pháp theo mục 6, trong đó ít nhất là một bước ủ các hạt trong dung dịch nước được tiến hành trong thời gian nằm trong khoảng từ 16 đến 40 giờ, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 20 đến 30 giờ.
- Phương pháp theo mục 6 hoặc 7, trong đó bước ủ các hạt ngũ cốc trong không khí được tiến hành trong điều kiện sục khí.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ 6 đến 8, trong đó bước ủ các hạt ngũ cốc trong không khí được tiến hành trong thời gian nằm trong khoảng từ 18 đến 50 giờ, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 18 đến 38 giờ, ví dụ nằm trong khoảng từ 22 đến 35 giờ.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó toàn bộ thời gian của bước nảy mầm không vượt quá 72 giờ, tốt hơn nếu không vượt quá 60 giờ, thậm chí tốt hơn nếu không vượt quá 54 giờ.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó dung dịch nước là nước.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước bổ sung axit gibberelic (GA) vào dung dịch nước.
- Phương pháp theo mục 12, trong đó GA được bổ sung vào dung dịch nước ở

nồng độ thấp nhất là 100 nM, ví dụ thấp nhất là 1000 nM.

- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó ít nhất là 3l, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 4l, còn tốt hơn nữa nếu ít nhất là 5l, thậm chí tốt hơn nữa nếu ít nhất là 6l O₂ trên kg trọng lượng khô các hạt ngũ cốc trên giờ được cho đi qua dung dịch nước.
 - Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó ít nhất là 20g O₂ trên kg hạt ngũ cốc, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 30g O₂ trên kg hạt ngũ cốc, còn tốt hơn nữa nếu ít nhất là 40g O₂ trên kg hạt ngũ cốc, ví dụ nằm trong khoảng từ 40 đến 100g O₂ trên kg hạt ngũ cốc, như nằm trong khoảng từ 40 đến 80g O₂ trên kg hạt ngũ cốc, ví dụ nằm trong khoảng từ 60g O₂ trên kg hạt ngũ cốc (chất khô) trên giờ được cho đi qua hỗn hợp dung dịch nước/hạt ngũ cốc.
 - Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó O₂ được bao gồm trong hỗn hợp khí.
17. Phương pháp theo mục 16, trong đó hỗn hợp khí là không khí.
18. Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó ít nhất là 10l, tốt hơn nếu ít nhất là 15l, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 20l, còn tốt hơn nữa nếu ít nhất là 25l, thậm chí tốt hơn nữa nếu ít nhất là 30l không khí trên kg trọng lượng khô các hạt ngũ cốc trên giờ được cho đi qua dung dịch nước.
19. Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó dung dịch nước còn bao gồm chất chống tạo bọt.
20. Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó bước ủ được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 15 đến 30°C, tốt hơn nếu ở khoảng 25°C.
21. Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt được giữ trong cùng một bình trong bước b.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt ngũ cốc được ủ trong dung dịch nước cho đến khi có hàm lượng nước thấp nhất là 35%, như thấp nhất là 37%.
 - Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt được

cung cấp ở bước a, đã được xử lý bằng chất diệt vi sinh vật.

- Phương pháp theo mục 23, trong đó chất diệt vi sinh vật là peroxit, như hydro peroxit.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trước đó trong đó phương pháp này không bao gồm bước loại bỏ rễ con.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó ngũ cốc là ngũ cốc đã bỏ vỏ, ví dụ lúa mạch đã bỏ vỏ.
- Phương pháp theo mục 26, trong đó phương pháp này bao gồm bước loại bỏ ít nhất là một phần vỏ trước khi ủ các hạt trong dung dịch nước.
- Phương pháp theo mục 27, trong đó gồm bước loại bỏ vỏ dẫn đến mức hao hụt nằm trong khoảng từ 1 đến 4%, như mức hao hụt nằm trong khoảng từ 1,5 đến 3,0% tổng trọng lượng của các hạt ngũ cốc.
- Phương pháp tạo ra nước chiết ngũ cốc, phương pháp này bao gồm các bước:
 - cung cấp các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có hàm lượng nước thấp nhất là 35%;
 - nghiền mịn các hạt đã nảy mầm nêu trên, trong khi đó các hạt đã nảy mầm này có hàm lượng nước thấp nhất là 35%;
 - tạo ra nước chiết từ các hạt đã nảy mầm đã nghiền nêu trên, nhờ đó tạo ra nước chiết ngũ cốc.
- Phương pháp tạo ra nước chiết ngũ cốc, phương pháp này bao gồm các bước:
 - cung cấp các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có hàm lượng nước thấp nhất là 20% với điều kiện là các hạt ngũ cốc nêu trên không có hàm lượng nước dưới 20% ở thời điểm bất kỳ sau khi nảy mầm;
 - nghiền mịn các hạt đã nảy mầm nêu trên, trong khi đó các hạt đã nảy mầm này có hàm lượng nước thấp nhất là 20%;
 - tạo ra nước chiết từ các hạt đã nảy mầm đã nghiền nêu trên,

nhờ đó tạo ra nước chiết ngũ cốc.

- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có hàm lượng nước thấp nhất là 25%, thậm chí tốt hơn nữa nếu ít nhất là 30%, còn tốt hơn nữa nếu ít nhất là 35% ở thời điểm nghiền mịn các hạt ngũ cốc.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt ngũ cốc đã nảy mầm không có hàm lượng nước nhỏ hơn 25%, thậm chí tốt hơn nữa nếu nhỏ hơn 30%, còn tốt hơn nữa nếu nhỏ hơn 35% ở thời điểm bất kỳ giữa thời điểm hoàn thành bước nảy mầm và thời điểm nghiền mịn các hạt ngũ cốc.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó ngũ cốc là lúa mạch.
- Phương pháp theo mục 33, trong đó lúa mạch là lúa mạch không có vỏ hoặc giống lúa mạch có vỏ mỏng.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 32, trong đó ngũ cốc là ngũ cốc không có vỏ, ví dụ lúa mỳ hoặc lúa mạch không có vỏ.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 33, trong đó ngũ cốc là ngũ cốc đã bỏ vỏ, như lúa mạch đã bỏ vỏ.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó ngũ cốc là lúa mạch đặc trưng bởi một hoặc nhiều đặc điểm sau:
 - mang đột biến trong gen mã hóa enzym tổng hợp β -glucan
 - mang đột biến trong gen mã hóa LOX-1
 - mang đột biến trong gen mã hóa LOX-2
 - mang đột biến trong gen mã hóa MMT; và/hoặc
 - mang đột biến trong gen mã hóa DELLA.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt đã nảy mầm có hoạt tính -amylaza thấp nhất là 4 U/g, tốt hơn nếu thấp nhất là 30 U/g hạt ngũ cốc tính trên trọng lượng khô.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt đã nảy mầm có hoạt tính -amylaza thấp nhất là 100 U/g hạt ngũ cốc tính trên trọng

lượng khô.

- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt đã nảy mầm có hoạt tính β -amylaza thấp nhất là 5 U/g hạt ngũ cốc tính trên trọng lượng khô.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt đã nảy mầm có hoạt tính dextrinaza giới hạn thấp nhất là 5 mU/g hạt tính trên trọng lượng khô.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt đã nảy mầm mang nhiều nhất là 4g rễ con (chất khô) trên 100g các hạt ngũ cốc đã nảy mầm (chất khô).
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt đã nảy mầm mang nhiều nhất là 2g rễ con (chất khô) trên 100g các hạt ngũ cốc đã nảy mầm (chất khô).
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó các hạt đã nảy mầm ngay trước khi bước nghiền mịn có hàm lượng nitroamin nhiều nhất là 0,15 $\mu\text{g/kg}$, tốt hơn là nhiều nhất là 0,12 $\mu\text{g/kg}$, ví dụ nhiều nhất là 0,10 $\mu\text{g/kg}$ các hạt ngũ cốc (chất khô).
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó bước C bao gồm ngâm ủ các hạt đã nảy mầm đã nghiền với dung dịch ngâm ủ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50 đến 80°C.
- Phương pháp theo mục 45, trong đó việc ngâm ủ được tiến hành với sự có mặt của một hoặc nhiều enzym thủy phân được bổ sung.
- Phương pháp theo mục 46, trong đó ít nhất một enzym thủy phân được chọn từ nhóm bao gồm các enzym phân cắt thành tế bào và tinh bột, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, -amylaza, β -amylaza, dextrinaza giới hạn, pululanaza, β glucanaza, xylanaza, glucoamylaza và proteaza.
- Phương pháp theo mục 45, trong đó việc ngâm ủ được tiến hành với sự có mặt của ít nhất là một β -glucanaza và ít nhất là một xylanaza.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ 45 đến 48, trong đó nhiều

nhất là 700 U, tốt hơn là nhiều nhất là 350 U glucoamylaza ngoại sinh và/hoặc α -amylaza trên g các hạt ngũ cốc đã nảy mầm (trọng lượng khô) được bổ sung trong quá trình ngâm ủ.

- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ 45 đến 49, trong đó nhiều nhất là 100 PUN pululanaza ngoại sinh trên g các hạt ngũ cốc đã nảy mầm (trọng lượng khô) được bổ sung trong quá trình ngâm ủ.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ 45 đến 46 và 49 đến 50, trong đó ngũ cốc được đặc trưng bởi mức β glucan thấp trong các hạt này, và trong đó β -glucanaza không được bổ sung trong quá trình ngâm ủ.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước lọc nước chiết.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó nước chiết có khả năng lọc thấp nhất là 50%, như thấp nhất là 60%.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó nước chiết bao gồm nhiều nhất là 200 mg/l β -glucan.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó nước chiết bao gồm ít nhất là 10 g, như ít nhất là 15g maltoza trên l.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó nước chiết bao gồm nằm trong khoảng từ 150 đến 400 mg/l FAN.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó nước chiết bao gồm ít nhất là 60 mg/l, tốt hơn nếu ít nhất là 65 mg/l valin.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục trước đó, trong đó phương pháp này không bao gồm bước sấy khô bằng lò sấy.
- Phương pháp sản xuất đồ uống, phương pháp này bao gồm các bước:
 - tạo ra nước chiết bằng phương pháp theo mục bất kỳ trước đó;
 - xử lý nước chiết này thành đồ uống.
- Phương pháp theo mục 59, trong đó bước ii bao gồm các bước:

- gia nhiệt nước chiết tùy ý với sự có mặt của hoa bia hoặc chất chiết hoa bia;
- làm nguội nước chiết;
- lên men nước chiết này bằng nấm men, nhờ đó tạo ra đồ uống lên men.
- Phương pháp theo mục 60, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước sa lắng được thực hiện sau bước a hoặc bước b.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục nêu trên, trong đó toàn bộ phương pháp được tiến hành ở một địa điểm.
- Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ 59 đến 62, trong đó đồ uống bao gồm nhiều nhất là 25, như nhiều nhất là 20 ppb diaxetyl.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được minh họa thêm bằng các ví dụ dưới đây. Tuy nhiên, các ví dụ này không được coi là để giới hạn sáng chế. Các mẫu lúa mạch được sử dụng trong các ví dụ dưới đây được phân tích như sau:

- *Phép thử nảy mầm*

Tất cả các mẫu lúa mạch được sử dụng trong các ví dụ đều được đánh giá các thông số bao gồm chỉ số nảy mầm, năng lượng nảy mầm và độ nảy của nước. Số liệu được dựa trên kích thước mẫu 100 hạt lúa mạch dùng cho phép thử nảy mầm 4-ml và kích thước mẫu 100 hạt lúa mạch cho phép thử nảy mầm 8-ml theo phương pháp Analytica-EBC 3.6.2 Năng lượng nảy mầm của lúa mạch (phương pháp BRF).

- *Phân tích đặc điểm của các mẫu lúa mạch*

- Trọng lượng của một ngàn hạt được xác định bằng cách đếm tự động sử dụng dụng cụ Data Count JR, trong khi đó việc phân loại theo kích thước sử dụng dụng cụ Pfeuffer Sortimat K3 được điều chỉnh theo 4 nhóm hạt khác nhau (): $>2,8$ mm; $2,8 \geq 2,5$ mm; $2,5 \geq 2,2$ mm; $<2,2$ mm. Số liệu phân loại theo kích thước được tính dựa trên các mẫu 100g hạt.
- Hàm lượng protein, nước và tinh bột của các mẫu lúa mạch được xác định sử dụng

dụng cụ Foss 1241 NIT, sử dụng kiểm chuẩn lúa mạch (FOSS BY213271; được cung cấp bởi Foss, DK). Trước khi ủ (ví dụ, 24 giờ) trong dung dịch nước, hàm lượng nước của các mẫu 100g hạt được xác định lại bằng cách sử dụng dụng cụ Foss 1241 NIT sử dụng kiểm chuẩn lúa mạch Foss BY303300 (Foss, Đan Mạch).

- Hàm lượng nước của hạt được xác định bằng cách đầu tiên xác định trọng lượng của mẫu lúa mạch tương ứng, tiếp theo là sấy khô mẫu này và xác định trọng lượng của mẫu đã sấy khô. Giá trị chênh lệch giữa trọng lượng mẫu ướt và mẫu khô được coi là nước, và hàm lượng nước bằng trọng lượng của nước chia cho tổng trọng lượng của mẫu (mẫu ướt).
- *Phân tích các hạt đã nảy mầm*

Các mẫu hạt nảy mầm được đánh giá về các thông số sau đây (trọng lượng/trọng lượng): hàm lượng nước, hàm lượng protein, protein tan và chất chiết của mẫu mạch nha. Các giá trị được xác định sử dụng dụng cụ Foss 1241 NIT được kiểm chuẩn theo số liệu được cung cấp bởi Foss (DK; kiểm chuẩn MA000010).

Ví dụ 1. Ngâm và nảy mầm một bước

Trong các thử nghiệm trên quy mô thí nghiệm, 1 kg hạt lúa mạch khô được đặt trong thùng chứa hình trụ Plexiglass và sục khí liên tục bằng không khí từ bên dưới cột chứa hạt. Hình vẽ dạng sơ đồ thể hiện thiết bị được sử dụng được cung cấp ở đây trên Fig.8. Hạt được sục khí từ bên dưới với các mức không khí thay đổi trong khoảng thời gian khác nhau, trong đó hàm lượng ẩm tăng như được thể hiện trên Bảng 1 và quá trình nảy mầm được bắt đầu. Các loại giống lúa mạch khác nhau, như được thể hiện trong phần chú thích của hình vẽ được sử dụng trong phân tích này. Dòng không khí được thiết lập bằng cách sử dụng thiết bị đo dòng khối SmartTrak® 50 và thiết bị kiểm soát (Sierra, CA, USA) và nhiệt độ được đo sử dụng nhiệt kế chính xác Testo 735 (Testo, Đức).

Các cảm biến dùng để đo dòng không khí, nhiệt độ, độ pH, độ dẫn điện, thế oxy hóa khử và hàm lượng O₂ của nước ngâm được kết hợp vào hệ thống này. Các

cảm biến này không chỉ cho phép quy trình được theo dõi theo thời gian thực, mà còn kiểm soát được các điều kiện ngâm và nảy mầm trong quá trình ngâm ủ; mức độ kiểm soát này không thể thực hiện theo quy trình tạo mạch nha và sản xuất bia hiện nay.

Các hạt của dòng lúa mạch không có vỏ được chuyển vào bình chứa Plexiglas và đầu tiên được ủ 3 giờ trong P3-hypocloran 1% (Ecolab, Thụy Sĩ) sau đó ủ trong 45 giờ trong nước được điều chỉnh đến axit gibberelic 1 nM (GA) và Foamazol FCD511 0,01% (AB Vickers, Burton on Trent, UK). Việc ủ được thực hiện ở 15 hoặc 25°C, và các hạt được sục không khí với lưu lượng 30, 60, 90 hoặc 120 l/giờ. Các mẫu được lấy sau 24 giờ và 48 giờ. Các kết quả được tóm tắt trên Fig.2. Như được thể hiện, việc tiếp xúc với không khí thúc đẩy mạnh quá trình nảy mầm của lúa mạch. Khi so sánh với mẫu không được sục khí (0 l/giờ) tất cả các mẫu được sục dòng không khí đều đặc trưng bởi có sự chênh lệch đáng kể về sự phát triển của hạt. Cụ thể, các hạt có mầm nhìn thấy lớn hơn 1 mm thậm chí sau 24 giờ, ở 15°C và dòng không khí với lưu lượng 30 l/giờ. Việc tăng dòng không khí làm phát triển thêm các mầm bổ sung sau 24 giờ ở 15°C. Ở 25°C một số hạt thậm chí còn phát triển rễ con nhìn thấy (60, 90 hoặc 120 l/giờ). Việc tăng thời gian ủ dẫn tới sự phát triển nhanh hơn, với tất cả các hạt được sục dòng không khí đều đặc trưng bởi sự nảy mầm và phát triển rễ con nhìn thấy sau 48 giờ. Khi tăng nhiệt độ ủ, sự phát triển của các mầm và rễ con cũng được tăng cường. Dòng không khí với lưu lượng 90 l/giờ tương ứng với 51g O₂ trên giờ. Nếu được tính dưới dạng O₂ trên 1 H₂O, thì lượng này sẽ thay đổi theo thời gian, do các hạt ngũ cốc hấp thụ nước trong khi ủ. Thông thường, dòng không khí với lưu lượng 90 l/giờ tương ứng với 64-121g O₂ trên 1 H₂O trên giờ.

Cùng thí nghiệm này được tiến hành sử dụng các hạt thuộc dòng lúa mạch đã bỏ vỏ và các kết quả được tóm tắt trên Fig.3. Các hạt thuộc dòng lúa mạch đã bỏ vỏ cũng có mầm nhìn thấy lớn hơn 1 mm sau khi ủ trong 24 giờ, ở 25°C và dòng không khí với lưu lượng 30 l/giờ. Việc làm tăng thời gian ủ dẫn tới sự phát triển tăng ở tất cả các hạt được sục dòng không khí với lưu lượng 60 l/giờ đặc trưng bởi sự nảy mầm và sự phát triển của các rễ con nhìn thấy sau 48 giờ.

Mức hấp thụ nước của các hạt được xác nhận bằng cách xác định hàm lượng nước dưới dạng % (trọng lượng/trọng lượng) ở dòng lúa mạch không có vỏ và ở dòng lúa mạch đã bỏ vỏ, ở 15°C và 25°C như đã mô tả ở trên. Các kết quả được tóm tắt trong Bảng 1 (lúa mạch không có vỏ) và Bảng 2 (lúa mạch đã bỏ vỏ) dưới đây. Hàm lượng nước đường như không phụ thuộc quá nhiều vào dòng không khí, khi dòng không khí có lưu lượng thấp nhất là 30 l/giờ. Ngược lại, hàm lượng nước cao hơn nhiều sau 24 giờ ở 25°C so với ở 15°C.

Bảng 1. Mức hấp thụ nước (%), các hạt lúa mạch không vỏ

Dòng không khí	Nhiệt độ (T) = 15°C						T = 25°C		
	0 giờ	24 giờ	48 giờ	0 giờ	24 giờ	48 giờ	0 giờ	24 giờ	48 giờ
0 l/giờ	11,4	31,7 ± 0,6	37,1 ± 1,4	11,4	36,7 ± 1,3	43,3 ± 0	11,4	36,7 ± 1,3	43,3 ± 0
30 l/giờ	11,4	35,5 ± 1,5	41,5 ± 1,8	11,4	40,6 ± 0,5	46,0 ± 0	11,4	40,6 ± 0,5	46,0 ± 0
60 l/giờ	11,4	35,1 ± 1,0	42,0 ± 1,2	11,4	38,9 ± 0,1	46,5 ± 0	11,4	38,9 ± 0,1	46,5 ± 0
90 l/giờ	11,4	34,3 ± 0,9	42,6 ± 1,4	11,4	38,3 ± 1,7	45,7 ± 0	11,4	38,3 ± 1,7	45,7 ± 0
120 l/giờ	11,4	35,5 ± 0,8	43,2 ± 1,1	11,4	38,2 ± 2,2	44,9 ± 0	11,4	38,2 ± 2,2	44,9 ± 0

Bảng 2. Mức hấp thụ nước (%), các hạt lúa mạch đã bỏ vỏ

Dòng không khí	Nhiệt độ (T) = 15°C						T = 25°C		
	0 giờ	24 giờ	48 giờ	0 giờ	24 giờ	48 giờ	0 giờ	24 giờ	48 giờ
0 l/giờ	13,6	32,5 ± 0,7	36,5 ± 0,3	13,6	38,3 ± 0,6	42,6 ± 0,7	13,6	38,3 ± 0,6	42,6 ± 0,7
30 l/giờ	13,6	33,4 ± 0,3	39,0 ± 0,4	13,6	39,3 ± 0,2	46,7 ± 0,6	13,6	39,3 ± 0,2	46,7 ± 0,6
60 l/giờ	13,6	32,9 ± 0,7	39,4 ± 0,6	13,6	39,7 ± 1,2	47,9 ± 0,2	13,6	39,7 ± 1,2	47,9 ± 0,2
90 l/giờ	13,6	34,1 ± 0,3	38,5 ± 0,2	13,6	40,3 ± 0,4	47,2 ± 0,5	13,6	40,3 ± 0,4	47,2 ± 0,5
120 l/giờ	13,6	33,3 ± 0,5	39,0 ± 0,4	13,6	40,1 ± 0,3	47,3 ± 0,8	13,6	40,1 ± 0,3	47,3 ± 0,8

Do đó, các kết quả theo sáng chế thể hiện rằng nhiệt độ 25°C có thể được ưu tiên hơn cho các tốc độ hấp thụ nước ban đầu của hạt và kéo theo là tốc độ tổng thể của quá trình nảy mầm.

Ví dụ 2. Hoạt tính của enzym

Trong quá trình nảy mầm, hạt lúa mạch bắt đầu tiết ra một loạt các enzym thủy phân, như α -amylaza, dextrinaza giới hạn và (1,3;1,4)- β -glucanaza. Thông thường, hoạt tính của các enzym này được phát hiện theo cách được phối hợp kịp thời, với hoạt tính của α -amylaza, β -amylaza và/hoặc dextrinaza giới hạn thích hợp làm chỉ báo chung cho hoạt tính của các enzym thủy phân. Do đó, hoạt tính của α -amylaza và dextrinaza giới hạn được xác định sau khi việc nảy mầm được thực hiện theo phương pháp của sáng chế.

GA là một hocmon thực vật hoạt hóa lớp aleuron trong quá trình nảy mầm của lúa mạch. Nhiều nhà sản xuất mạch nha đã bổ sung GA ở nồng độ thấp vào trong quy trình tạo mạch nha. Ở đây, GA với các nồng độ khác nhau được bổ sung vào nước dùng để ủ các hạt vào thời điểm bắt đầu của quy trình. Dung dịch GA₃ được chuẩn bị từ axit giberelic (G7645, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) trong etanol tuyệt đối và được bổ sung vào nước. Hoạt tính enzym được theo dõi bằng cách đo hoạt tính enzym thủy phân trong chất chiết hạt ở 24 giờ và 48 giờ.

Chuẩn bị mẫu

Trước khi phân tích hoạt tính của enzym, các mẫu hạt nảy mầm được nghiền sử dụng máy nghiền tiêu chuẩn Foss Cyclotech (Foss, Đan Mạch), được trang bị đai nghiền tungsten cacbua (Foss 10004463), cánh khuấy mạ niken (Foss 1000 2666) và sàng tháo 1 mm (Foss 10001989). Tất cả các phép đo hoạt tính của enzym trong các hạt lúa mạch nảy mầm được thực hiện trong vòng 48 giờ sau khi nghiền mẫu này.

Hoạt tính α -amylaza

Hoạt tính α -amylaza của các hạt đã nảy mầm được tính dựa trên bột được chuẩn bị như đã mô tả ở trên trong phần "Chuẩn bị mẫu". Các thử nghiệm dùng để xác định hoạt tính α -amylaza sử dụng bộ kit Ceralpha từ Megazyme sử dụng thiết bị thí nghiệm chuẩn. Các thử nghiệm này được thực hiện theo quy trình của nhà sản xuất (K-CERA 01/12), kể cả tính toán hoạt tính α -amylaza.

Hoạt tính β -Amylaza

Khi đo hoạt tính beta-amylaza của các hạt đã nảy mầm, bột được chuẩn bị như đã mô tả ở trên trong phần "Chuẩn bị mẫu". Thử nghiệm đo hoạt tính β -

amylaza được thực hiện theo khuyến cáo được cung cấp cùng với bộ kit Betamyl từ Megazyme (KBETA3).

Hoạt tính dextrinaza giới hạn

Để đo hoạt tính dextrinaza giới hạn trong các hạt đã nảy mầm, bột được chuẩn bị như đã mô tả ở trên trong phần "Chuẩn bị mẫu". Hoạt tính dextrinaza giới hạn được xác định sử dụng bộ kit Limit Dextrizyme T-LDZ1000 từ Megazyme. Các thử nghiệm, bao gồm các phép đo hoạt tính, được thực hiện theo quy trình của nhà sản xuất (TLDZ1000 07/9).

Hoạt tính -amylaza, β -amylaza và dextrinaza giới hạn được xác định trong dòng lúa mạch không có vỏ. Các hạt lúa mạch này được nảy mầm về cơ bản như được mô tả trong ví dụ 1 bằng cách ủ trong nước với sự có mặt của FCD511 Foamzol 0,01% và các lượng GA khác nhau trong điều kiện sục khí. Dòng không khí được đặt ở tốc độ 90 l/giờ sử dụng thiết bị đo dòng khối và thiết bị kiểm soát SmartTrak® 50 (Sierra, CA, USA) mà không khử trùng ở 25C (được đo bằng cách sử dụng nhiệt kế chính xác Testo 735, Testo, Đức). Các hoạt tính enzym nêu trên trong các hạt đã nảy mầm được đo ở 24 và 48 giờ sau khi ngâm, với các kết quả được thể hiện trên Fig.4.

Ngoài ra, hoạt tính -amylaza, β -amylaza và dextrinaza giới hạn được xác định ở cả dòng lúa mạch không có vỏ và dòng lúa mạch đã bỏ vỏ. Các hạt lúa mạch này được nảy mầm về cơ bản như được mô tả trong Ví dụ 1 bằng cách ủ trong nước với sự có mặt của FCD511 Foamzol 0,01% và GA 1000 nM trong điều kiện sục khí. Việc thay đổi dòng không khí được sử dụng như được thể hiện trong Bảng 3 và 4 dưới đây sử dụng thiết bị đo dòng khối và thiết bị kiểm soát SmartTrak® 50 (Sierra, CA, USA) mà không khử trùng ở 25C (được đo bằng cách sử dụng nhiệt kế chính xác Testo 735, Testo, Đức). Các hoạt tính enzym trong các hạt đã nảy mầm được đo ở 24 và 48 giờ, với các kết quả được thể hiện trong Bảng 3 (lúa mạch không có vỏ) và Bảng 4 (lúa mạch đã bỏ vỏ).

Bảng 3. Các hoạt tính enzym trong các hạt lúa mạch không có vỏ.

Dòng không khí	Nhiệt độ (T) = 15°C			T = 25°C		
	0 giờ	24 giờ	48 giờ	0 giờ	24 giờ	48 giờ
*) 0 l/giờ β**) LD***)	1,1 ± 0,2	0,2 ± 0,2	n.d.	1,1 ± 0,2	n.d.	n.d.
	18,6 ± 0,3	19,4 ± 0,1	16,2 ± 2,6	18,6 ± 0,3	15,8 ± 0,6	16,8 ± 1,6
	1,6 ± 2,2	0,3 ± 0,4	0,4 ± 0,9	1,6 ± 2,2	1,1 ± 1,6	1,4 ± 0,8
30 l/giờ β LD	1,1 ± 0,2	2,0 ± 0,2	13,6 ± 0,1	1,1 ± 0,2	5,2 ± 0,7	33,1 ± 0,6
	18,6 ± 0,3	13,8 ± 0,3	18,3 ± 1,8	18,6 ± 0,3	16,3 ± 0,8	19,6 ± 0,6
	1,6 ± 2,2	4,6 ± 3,3	5,5 ± 0,9	1,6 ± 2,2	5,2 ± 0,6	14,0 ± 3,1
60 l/giờ β LD	1,1 ± 0,2	0,6 ± 0,1	13,4 ± 0,8	1,1 ± 0,2	5,2 ± 0,1	48,3 ± 1,6
	18,6 ± 0,3	15,0 ± 1,8	18,6 ± 2,1	18,6 ± 0,3	15,5 ± 2,0	16,9 ± 3,7
	1,6 ± 2,2	3,6 ± 0,2	7,5 ± 2,9	1,6 ± 2,2	4,8 ± 1,9	19,6 ± 2,5
90 l/giờ β LD	1,1 ± 0,2	0,6 ± 0,1	13,8 ± 0,3	1,1 ± 0,2	5,2 ± 0,1	59,3 ± 2,3
	18,6 ± 0,3	16,7 ± 1,6	16,9 ± 1,4	18,6 ± 0,3	15,1 ± 3,6	17,7 ± 2,5
	1,6 ± 2,2	1,5 ± 1,4	7,5 ± 0,6	1,6 ± 2,2	4,0 ± 1,6	26,0 ± 3,3
120 l/giờ β LD	1,1 ± 0,2	0,6 ± 0,1	12,7 ± 0,7	1,1 ± 0,2	4,9 ± 0,1	59,3 ± 0,9
	18,6 ± 0,3	16,9 ± 1,8	17,7 ± 1,7	18,6 ± 0,3	14,6 ± 3,1	18,6 ± 3,4
	1,6 ± 2,2	2,1 ± 1,0	7,6 ± 0,4	1,6 ± 2,2	2,0 ± 0,4	22,4 ± 0,7

*) Hoạt tính -amylaza (U/g);

**) Hoạt tính β-amylaza (U/g);

***) Hoạt tính dextrinaza giới hạn tự do (mU/g)

n.d.: Không xác định (not determined)

Bảng 4. Các hoạt tính enzym trong các hạt lúa mạch đã bỏ vỏ *).

Dòng không khí	Nhiệt độ (T) = 15°C			T = 25°C		
	0 giờ	24 giờ	48 giờ	0 giờ	24 giờ	48 giờ

0 l/giờ	β	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	LD	$17,1 \pm 0,7$	$19,2 \pm 1,7$	$18,2 \pm 1,0$	$17,1 \pm 0,7$	$12,8 \pm 1,4$	$10,7 \pm 0,5$
30 l/giờ	β	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	LD	$17,1 \pm 0,7$	$17,3 \pm 1,7$	$11 \pm 2,7$	$17,1 \pm 0,7$	$12,1 \pm 1,4$	$1,9 \pm 2,7$
60 l/giờ	β	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	LD	$17,1 \pm 0,7$	$18,9 \pm 0,5$	$11,0 \pm 0,7$	$17,1 \pm 0,7$	$9,8 \pm 0,9$	$17,5 \pm 1,2$
90 l/giờ	β	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	LD	$17,1 \pm 0,7$	$18,6 \pm 1,0$	$10,3 \pm 1,0$	$17,1 \pm 0,7$	$9,3 \pm 0,6$	$17,2 \pm 1,2$
120 l/giờ	β	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	LD	$17,1 \pm 0,7$	$18,6 \pm 0,6$	$10,9 \pm 1,3$	$17,1 \pm 0,7$	$9,2 \pm 0,6$	$16,0 \pm 1,2$

*) Các từ viết tắt là giống với các từ viết tắt trong phần chú thích của Bảng 3; n.d. = không được xác định.

Như được minh họa trên Fig.4, các mức của cả -amylaza và dextrinaza giới hạn đều tăng đáng kể sau khi bổ sung GA.

Ví dụ 3. Ngâm ủ

Các hạt lúa mạch được nảy mầm như được mô tả trên đây trong ví dụ 1. Sau 2 ngày ngâm và nảy mầm liên tục, pha lỏng được tháo ra khỏi các hạt và các hạt này được nghiền ướt trong máy đồng hóa có quy mô dùng trong phòng thí nghiệm (Omega Juicer 8226, Omega, USA). Việc chiết các hạt đã nghiền này trong nước được tiến hành sử dụng chế độ ngâm ủ được nêu trên Fig.5. Quy trình này cũng có thể được đề cập là "ngâm ủ". Trong quy trình ngâm ủ, quá trình đường hóa cũng thường xuất hiện. Trong quy trình ngâm ủ, CaCl_2 và H_3PO_4 thường được bổ sung vào nước.

Trong quy trình ngâm ủ công nghiệp, các chế phẩm enzym ngoại sinh có thể được bổ sung vào để chuyển hóa liên tục tinh bột, protein dự trữ và polysacarit đã bị phân cắt một phần trong thành tế bào thành đường có thể lên men và axit amin mà sau đó hỗ trợ quá trình sinh trưởng của nấm men trong khi lên men. Các đặc điểm ngâm ủ khi có mặt và không có mặt hỗn hợp enzym dùng để sản xuất bia Ultraflo Max (Novozymes, Đan Mạch) được so sánh. Ultraflo Max là hỗn hợp enzym có hoạt tính β -glucanaza và xylanaza. Sau khi ngâm ủ, các chất chiết được lọc sử dụng thiết bị lọc dịch ngâm ủ tiêu chuẩn.

Hiệu lực của hỗn hợp enzym ngoại sinh được thử bằng cách xác định khả năng lọc của hỗn hợp ngâm ủ mà lưu lại sau quy trình ngâm ủ. Khả năng lọc được xác định sử dụng phễu lọc 140-mm TOP ID (Urbanti Pequannock, N.J.USA) được trang bị MN 614 $\frac{1}{4}$ 320 mm REF 527032 (Macherey Nagel Düren Đức). Trọng lượng của các mẫu được ghi lại sử dụng cân chuẩn (MPB15021, Mettler Toledo, Thụy Sĩ). Khả năng lọc được xác định là tổng lượng chất lỏng thu được sau lọc trong 60 phút của hỗn hợp ngâm ủ bao gồm 400 ml dung dịch ngâm ủ, trước đó được bổ sung 100g lúa mạch đã nảy mầm và nghiền.

Các kết quả thử nghiệm được tóm tắt trên Fig.6 cho các hạt thuộc dòng lúa mạch không có vỏ, mà được nảy mầm trong 48 giờ ở 25°C kèm theo sục khí như được mô tả cho thử nghiệm được mô tả chi tiết trong ví dụ 1.

Ví dụ 4. Dịch hèm

Dịch hèm được tạo ra như được mô tả chi tiết trong các thí nghiệm của ví dụ 3, sử dụng các hạt lúa mạch đã nảy mầm được chuẩn bị như được mô tả trong ví dụ 1. Các hạt lúa mạch thuộc dòng không có vỏ được ủ trong 48 giờ ở 25°C với sự có mặt của GA, như được mô tả trong ví dụ 1, trong điều kiện sục khí bằng không khí ở tốc độ 45 l/giờ hoặc 90 l/giờ. Các hạt lúa mạch đã nảy mầm này được nghiền ướt và ngâm ủ như được mô tả trong ví dụ 3 với sự có mặt hoặc không có mặt của hỗn hợp enzym Ultraflo Max (Novozymes, Đan Mạch).

Mức của các đường có thể lên men fructoza, sucroza, glucoza, maltoza và maltrioza được xác định theo cách sau. Sau khi đun sôi dịch hèm, dịch hèm này được pha loãng đến 1:2000 bằng milliQ-nước và sau đó lọc qua thiết bị lọc màng

nylon 0,2- μm (Titan3 30 mm, Thermo Scientific, CA, USA). Các phân ước 10 μl đầu tiên được đưa lên cột CarboPac SA10-4 μm , và sau đó được phân tích trên hệ thống HPLC không sử dụng chất phản ứng Dionex ICS 5000+ được trang bị cột bảo vệ CarboPac SA10-4 μm (4 50 mm). Việc rửa giải các phân tử sau khi phân tách được thực hiện bằng cách chạy KOH 25 mM đẳng dòng trong 20 phút. Sau khi trừ giá trị cơ sở và sử dụng hydratcacbon tinh khiết loại dùng cho HPLC làm chất chuẩn tham chiếu [d-(+)-glucoza, d-fructoza, d-(+)-maltoza maltrioza], hydratcacbon được định lượng bằng tích phân diện tích đỉnh. Các kết quả được thể hiện trên Fig.7.

Ví dụ 5

Lên men

Dịch hèm, được tạo ra như được mô tả trong Ví dụ 3, được đun sôi với sự có mặt của hoa bia hoặc chất chiết của hoa bia và quá trình lên men bắt đầu thông qua việc cấy thông thường chủng nấm men thích hợp dùng để sản xuất bia vào chất chiết. Việc lên men, lọc bia và chiết chai được thực hiện theo các quy trình truyền thống.

Sản xuất bia quy mô nhỏ

Ví dụ này so sánh bia được sản xuất từ hai giống lúa mạch, được xử lý bằng phương pháp được mô tả trong sáng chế này với bia được sản xuất từ lúa mạch không tạo mạch nha được xử lý bằng hỗn hợp enzym dùng để sản xuất bia mua được thị trường. Dịch hèm và bia thành phẩm được phân tích và so sánh với bia lager tham chiếu mua trên thị trường (ở đây ký hiệu là “tham chiếu”) khi có thể. Số liệu về bia lager tham chiếu thu được độc lập từ các nguồn khác.

Nguyên liệu

Trừ khi có thông báo khác nếu không nguyên liệu được sử dụng là như sau.

	Thử nghiệm 1	Thử nghiệm 2	Thử nghiệm 3	Thử nghiệm 4	Tham chiếu
Giống lúa mạch	Không có vỏ 01	Đã bỏ vỏ 02	Đã bỏ vỏ 02	Không có vỏ 01	80% mạch nha 20% lúa mạch

Xử lý trước khi nghiền	ở tốc độ 90l không khí/giờ 24 giờ WA 24 giờ A	ở 90l không khí/giờ 24 giờ WA 24 giờ A	---	---	Mạch nha thu được bằng quy trình chuẩn
---------------------------	--	---	-----	-----	--

Nghiên

Nguyên liệu đã xử lý

Nguyên liệu chưa xử lý

Nghiên trên máy nghiền hoa quả gia đình (Omega J822C)	Nghiên trên MULTICRACKER
--	--------------------------

Nấu bia

Việc nấu bia được tiến hành trong các điều kiện chuẩn sử dụng tỷ lệ mạch nha/nước nằm trong khoảng từ 1 đến 4.

Nguyên liệu đã xử lý (thử nghiệm 1 và 2)	Nguyên liệu chưa xử lý (thử nghiệm 3)	Nguyên liệu chưa xử lý (thử nghiệm 4)	Tham chiếu
--	---	---	------------

pH	5,20	5,70	5,70	Thông thường 5,20
Bổ sung enzym	Ultraflo® Max, 0,2 g/kg DM Attenuzyme® Flex, 1,0 g/kg DM	OndeaPro®, 2,0 g/kg DM	OndeaPro®, 2,0 g/kg DM	Ultraflo® Max, 0,08 g/kg DM Attenuzyme® Core, 0,2 g/kg DM

Lúa mạch đã nảy mầm, nguyên liệu chưa xử lý và/hoặc mạch nha được ngâm ủ sử dụng chương trình ngâm ủ chuẩn với quá trình đường hóa 2 bước có

mặt của các enzym đã chỉ định.

Ultraflo® Max, Attenuzyme® Flex, Attenuzyme® Core và OndeaPro® đã có sẵn từ Novozymes, Đan Mạch. Theo nhà sản xuất:

- Ultraflo® Max bao gồm β -glucanaza (700 EGU/g) và xylanaza (250 FXU/g)
- Attenuzyme® Flex bao gồm glucoamylaza (400 AGU/g) và pululanaza (80 PUN/g) theo tờ thông tin sản phẩm từ nhà sản xuất
- Attenuzyme® Core bao gồm glucoamylaza (1600 AGU/g)
- OndeaPro® bao gồm β -glucanaza, xylanaza, α -amylaza, pululanaza (637 PUN/g), proteaza và lipaza.

Khi xác định hoạt tính của Attenuzyme® Flex như được mô tả trong ví dụ 2 đã phát hiện thấy rằng lượng Attenuzyme® Flex được sử dụng tương ứng với 16243 mU hoạt tính dextrinaza giới hạn trong lúa mạch trên g dung dịch enzym. Hơn thế nữa, đã phát hiện thấy rằng hoạt tính glucoamylaza và α -amylaza kết hợp là 628,863 U trên g dung dịch enzym.

Dịch hèm nguội được thu lấy sau khi lọc theo quy trình chuẩn và đun sôi dịch hèm với hoa bia được bổ sung ở thời điểm bắt đầu đun sôi.

Chất chiết ban đầu được điều chỉnh bằng nước máy để thu được plato cuối cùng (tính bằng %P) bằng 11,5 sau khi đun sôi và bay hơi và màu sắc của dịch hèm được điều chỉnh để thu được màu sắc tương tự với màu sắc của bia tham chiếu.

Lên men

- Brewers Clarex® (có sẵn từ DSM) được bổ sung vào dịch hèm nguội ở 0,1 g/kg DM
- dịch hèm được bổ sung 8E6 tế bào nấm men lager/ml (*S. pastorianus*),
- dịch hèm đã bổ sung này được sục khí bằng không khí trong 30 phút
- quá trình lên men được tiến hành trong thùng lên men không chịu áp ở 15°C cho đến khi kết thúc quá trình lên men

- bia đã lên men được giữ ở 4°C cho đến khi chuyển vào thùng chứa

Chuyển vào thùng chứa

- bia có ít hơn 5E5 tế bào/ml trong hỗn dịch được chuyển vào thùng chứa
- thùng này được phun khí CO₂ đến 0,5 bar trước và sau khi nạp
- CO₂ được bổ sung vào đến áp suất dư là 50kPa (0,5 bar) và bia này được giữ ở 4°C cho đến khi lọc

Lọc

- bia được lọc qua ba lớp tấm lọc dày
- áp suất CO₂ với trị số 120kPa (1,2 bar) được đưa vào bia trong thùng chứa sau khi lọc
- bia này được giữ ở 4°C cho đến khi đóng gói

Đóng gói

Bia được đóng gói trong các chai 33 cl và được giữ ở 4°C để tiến hành các phép thử cuối cùng và để đánh giá cảm quan. Các kết quả phân tích

Các đường trong dịch hèm trước khi lên men

Nồng độ của toàn bộ các đường có thể lên men được xác định về cơ bản như được mô tả trong ví dụ 4 và các kết quả được thể hiện trong Bảng 5. Các mức glucoza cao hơn đáng kể ở cả hai loại bia được sản xuất theo phương pháp của sáng chế so với bia được sản xuất từ lúa mạch không tạo mạch nha.

Bảng 5

	Thử nghiệm 1		Thử nghiệm 2		Thử nghiệm 3		Thử nghiệm 4		Tham chiếu	
	g/100 g/%P dịch hèm	%	g/100 g/%P dịch hèm	%	g/100g /%P dịch hèm	%	g/100g /%P dịch hèm	%	g/100g/ %P dịch hèm	%
Sucroza	0,008	1,9	0,016	1,8	0,019	2,5	0,021	2,2	0,024	3,3
Glucoza	0,202	47,4	0,497	56,3	0,054	7,1	0,046	4,8	0,333	46,1
Fructoza	0,012	2,8	0,014	1,5	0	0,0	0,013		0,016	2,2
Maltoza	0,193	45,3	0,338	38,3	0,533	70,8	0,651	68,7	0,312	43,2
Maltrioza	0,011	2,6	0,017	1,9	0,147	19,5	0,217	22,9	0,037	5,1

Nitơ amin tự do và β -glucan

Nồng độ của nitơ amin tự do (FAN) trong dịch hèm trước khi lên men cũng như trong bia thành phẩm được xác định theo quy trình chuẩn ThermoFisher, Gallary Biamaster cho FAN, phương pháp đo màu. Các giá trị điển hình của nitơ amin tự do (FAN) trong dịch hèm là 200 mg/l. FAN là yếu tố quan trọng để nấm men sống tốt trong khi lên men. Thông thường, các mức FAN đủ cao để đảm bảo nấm men sống tốt luôn được mong muốn. Các kết quả về FAN trong dịch hèm trước khi lên men được thể hiện ở Bảng 6a và trong bia ở Bảng 6b.

β -glucan thường bị phân cắt trong quá trình tạo mạch nha thông thường. Mức β -glucan quá cao thường không được mong muốn, do nó có thể gây ra các vấn đề cho quá trình lọc. Mức β -glucan trong dịch hèm trước khi lên men cũng như trong bia được xác định sử dụng bộ kit “Beta-Glucan (High MW)” từ Thermo Scientific theo các hướng dẫn của nhà sản xuất và các kết quả được thể hiện trong Bảng 6a (dịch hèm trước khi lên men) và Bảng 6b (bia).

Bảng 6a Dịch hèm trước khi lên men

mg/l	Thử nghiệm 1	Thử nghiệm 2	Thử nghiệm 3	Thử nghiệm 4	Tham chiếu
FAN	265	177	104	118	219
beta-glucan	143	107	86	151	73

Bảng 6b - Bia

mg/l	Thử nghiệm 1	Thử nghiệm 2	Thử nghiệm 3	Thử nghiệm 4	Tham chiếu
FAN	116	36	50	55	104
beta-glucan	60	50	44	58	46

Các axit amin trong dịch hèm trước khi lên men

Nồng độ của tất cả các axit amin tiêu chuẩn trong dịch hèm trước khi lên men đều được xác định sử dụng bộ kit Waters AccQ•Tag Ultra theo quy trình được mô tả trong sáng chế này. Các kết quả về các axit amin trong dịch hèm trước khi lên men được thể hiện trong Bảng 7.

Cụ thể, nồng độ của valin trước khi lên men là một yếu tố quan trọng. Càng nhiều valin có mặt trong dịch hèm, thì khả năng tạo thành “diacetyl không mong muốn” trong khi lên men càng thấp – và theo đó thời gian lưu DA sẽ lâu hơn. Nồng độ valin cao gấp 5-lần (Thử nghiệm 1) và 2-lần (Thử nghiệm 2) trong dịch hèm được tạo ra theo sáng chế so với Thử nghiệm 3.

Bảng 7

mg/l dịch hèm	Thử thử nghiệm 1	Thử thử nghiệm 2	Thử thử nghiệm 3	Thử thử nghiệm 4	Tham chiếu
Histidin	20	30	17	23	56
Asparagin	119	82	77	100	
Serin	8	44	26	43	67
Glutamin	79	45	10	16	
Arginin	92	92	59	77	144
Glyxin	58	34	18	21	36
Axit aspartic	9	54	45	53	79
Axit glutamic	87	58	36	67	72
Threonin	81	44	26	33	77
Alanin	193	103	45	58	113
Prolin	317	105	38	70	
Xystein	0	4	0	0	
Lysin	113	77	51	59	104
Tyrosin	94	56	36	45	116
Metionin	37	24	17	21	42
Valin	153	71	31	50	132
Isoleuxin	80	43	16	28	79
Leuxin	214	109	52	69	181
Phenylalanin	139	75	39	47	144
Tryptophan	47	32	25	30	
Tổng các axit amin	1960	1212	681	907	

Nhiều thông số quan trọng trong quá trình nấu bia và lên men được xác định và so sánh với tham chiếu. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 8. Đáng lưu ý là bia thu được bằng phương pháp theo sáng chế có mức diacetyl thấp hơn đáng kể.

Mức diaxetyl thấp nhất có thể thường được ưu tiên.

Bảng 8

	Thử nghiệm 1	Thử nghiệm 2	Thử nghiệm 3	Thử nghiệm 4	Tham chiếu
Chất chiết ban đầu, %P	11,4	11,5	11,7	11,5	10,1
RDF, %	70,8	70,5	74,9	72,5	70,3
pH	4,06	3,90	4,21	4,15	4,25
Rượu, % thể tích	5,2	5,2	5,6	5,4	4,54
Màu sắc, đơn vị EBC	5,4	8,0	5,4	7,1	6,4
Độ đắng	14	14	16	18	16
Diaxetyl, ppb	14	15	27	28	22
SO ₂ , mg/l	1	1	1	1	3

Đánh giá của hội đồng đánh giá cảm quan

Tất cả các loại bia được sản xuất như được mô tả trong ví dụ này được đánh giá bởi một hội đồng gồm các chuyên gia đánh giá cảm quan. Tổng điểm cho hương vị cho tất cả các loại bia này đều ở mức chấp nhận được. Sự chênh lệch giữa các loại bia khác nhau là bia từ thử nghiệm 3 có điểm “đáng chú ý” về hương vị “mùi vị xà phòng, chất béo, diaxetyl, có mùi dầu”, trong khi đó bia từ thử nghiệm 2 (được sản xuất theo sáng chế) chỉ có điểm “thấp” về hương vị này.

Ví dụ 6

Ngâm hạt lúa mì

4 loại hạt lúa mì mua được trên thị trường (1-Benchmark, 2-Creator, 3-Pistoria, 4-Sheriff) được khử trùng trong 1 giờ trong hypocloran 0,1%, sau đó ngâm và nảy mầm bằng cách ủ trong thùng chứa trong 24 giờ hoặc 48 giờ trong nước máy chứa GA3 1000 nM và chất chống tạo bọt với nồng độ 0,01% (Sigma 204). Việc ủ được thực hiện ở 25°C, và không khí với lưu lượng 90 l/giờ được dẫn qua nước từ đáy của thùng chứa trong toàn bộ quá trình ủ.

Sau khi ủ hoạt tính α -amylaza, β -amylaza và dextrinaza giới hạn được xác định về cơ bản như được mô tả trong ví dụ 2. Các kết quả được thể hiện trên Fig.9. Sau 48 giờ ủ hoạt tính α -amylaza và dextrinaza giới hạn tăng đáng kể.

Ví dụ 7

Ngâm lúa mạch đã bỏ vỏ

8 loại lúa mạch mua được trên thị trường (1 – Alexis, 2 – Chief, 3 – Chill, 4 – Paustian, 5 – Planet, 6 – Prestige, 7 – Quench, 8 – Tipple) được khử trùng trong 1 giờ trong hypochloran 0,1%, sau đó ngâm và nảy mầm bằng cách ủ trong thùng chứa trong 24 giờ hoặc 48 giờ trong nước máy chứa GA3 1000 nM và chất chống tạo bọt với nồng độ 0,01% (Sigma 204). Việc ủ được thực hiện ở 25°C, và không khí với lưu lượng 90 l/giờ được dẫn qua nước từ đáy của thùng chứa trong toàn bộ quá trình ủ.

Sau khi ủ hoạt tính α -amylaza được xác định về cơ bản như được mô tả trong ví dụ 2. Các kết quả được thể hiện trên Fig.10. Sau 48 giờ ủ, hoạt tính α -amylaza tăng đáng kể.

Ví dụ 8

Xát lúa mạch đã bỏ vỏ

Lúa mạch đã bỏ vỏ (Đã bỏ vỏ 02) được xát bằng cách xử lý cơ học trên giấy nhám trong 1, 2, 4 hoặc 16 phút để loại bỏ một phần vỏ. Việc xử lý này làm hao hụt 1, 2, 3 hoặc 5% trọng lượng. Hạt lúa mạch đã xát này được khử trùng trong 1 giờ trong hypochloran 0,1%, sau đó ngâm và nảy mầm bằng cách ủ trong thùng chứa trong 24 giờ hoặc 48 giờ trong nước máy chứa GA3 1000 nM và chất chống tạo bọt với nồng độ 0,01% (Sigma 204). Việc ủ được thực hiện ở 25°C, và không khí với lưu lượng 90 l/giờ được dẫn qua nước từ đáy của thùng chứa trong toàn bộ quá trình ủ.

Sau khi ủ hoạt tính α -amylaza, β -amylaza và dextrinaza giới hạn được xác định về cơ bản như được mô tả trong ví dụ 2. Các kết quả được thể hiện trên Fig.11. Việc xát hạt lúa mạch đến mức hao hụt trọng lượng 2% sẽ làm giảm đáng kể hoạt tính α -amylaza và dextrinaza giới hạn.

Ví dụ 9

Để yên trong không khí đối với lúa mạch không có vỏ và lúa mạch đã bỏ vỏ

Lúa mạch không có vỏ (Không có vỏ 01) và đã bỏ vỏ (Đã bỏ vỏ 02) được khử trùng trong 1 giờ trong hypocloran 0,1%, và ngâm và nảy mầm theo các chế độ ngâm khác nhau.

WA = nước/không khí:

Việc ủ trong thùng chứa trong nước máy chứa GA3 1000 nM và chất chống tạo bọt với nồng độ 0,01% (Sigma 204) ở 25°C, trong khi không khí với lưu lượng 90 l/giờ được dẫn qua nước từ đáy của thùng chứa trong toàn bộ quá trình ủ.

A = không khí

Ủ các hạt ngũ cốc ẩm trong thùng chứa. Trong toàn bộ quá trình ủ này, không khí với lưu lượng 90 l/giờ được dẫn qua các hạt ngũ cốc ẩm từ đáy của thùng chứa này. Việc ủ được thực hiện ở 25°C.

Các hạt ngũ cốc được ủ trong WA hoặc WA và A trong các khoảng thời gian được thể hiện trên Fig.13, và các kết quả được thể hiện trên Fig.13. Fig.12A thể hiện kết quả cho lúa mạch không có vỏ 01 và Fig.12B thể hiện các kết quả cho lúa mạch đã bỏ vỏ 02. 24 giờ ủ trong nước trong điều kiện sục khí, tiếp theo là 24-32 giờ ủ không có nước, nhưng vẫn trong điều kiện sục khí dẫn tới các hạt ngũ cốc có hoạt tính enzym rất cao.

Ví dụ 10

Lúa mạch đã nảy mầm được chuẩn bị về cơ bản như đã mô tả ở trên trong ví dụ 1. Cụ thể hơn, các hạt lúa mạch thuộc các loại không có vỏ 01 và đã bỏ vỏ 02 được khử trùng bằng nước rửa hypocloran 0,1% trong 1 giờ, sau đó ngâm và nảy mầm bằng cách ủ trong 48 giờ trong nước máy chứa GA 1000 nM và chất chống tạo bọt với nồng độ 0,01%. Việc ủ được thực hiện ở 25°C, và không khí với lưu lượng 90 l/giờ được dẫn qua nước từ đáy của thùng chứa này trong toàn bộ quá trình ủ. Lúa mạch đã nảy mầm được làm khô lạnh và cân lên. Các rễ con đã tạo thành được loại bỏ sử dụng thiết bị Munich cũ và lúa mạch đã nảy mầm được cân lại. Chênh lệch khối lượng trước khi và sau khi loại bỏ các rễ con được coi là khối lượng của rễ. Trọng lượng của 4 mẫu khác nhau được xác định, nhưng chỉ có 3 mẫu đầu tiên được đưa ra, do mẫu cuối cùng chứa bụi. Các kết quả được thể hiện

trong Bảng 9.

Bảng 9

	Không có vỏ 01			Đã bỏ vỏ 02		
			Khối			Khối
	Khối lượng	lượng	lượng rỗng	lượng	lượng	lượng rỗng
	trước (g)	sau (g)	con (g)	trước (g)	sau (g)	(g)
1	99,864	98,822	1,042	99,882	99,387	0,495
2	100,024	99,135	0,889	99,871	99,47	0,401
3	98,599	97,629	0,97	99,704	99,282	0,422
Trung bình			0,97			0,44
Độ lệch chuẩn			0,08			0,05

Các hạt lúa mạch từ cùng một lô không có vỏ 01 và đã bỏ vỏ 02 cũng được ngâm và nảy mầm trong 96 giờ bằng các phương pháp chuẩn. Lúa mạch đã nảy mầm được làm khô lạnh và cân lên và các rỗng con được loại bỏ sử dụng thiết bị Munich cũ. Sau khi loại bỏ rỗng con, lúa mạch được cân lại và chênh lệch khối lượng trước khi và sau khi loại bỏ các rỗng con được coi là khối lượng của rỗng con. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 10.

Bảng 10

Không có vỏ 01			Đã bỏ vỏ 02		
		Khối			Khối
Khối lượng	lượng	lượng rỗng	lượng	lượng	lượng rỗng
trước (g)	sau (g)	(g)	trước (g)	sau (g)	(g)

1	95,167	87,026	8,141	96,343	89,867	6,476
2	95,281	87,046	8,235	95,602	89,102	6,5
3	95,318	87,113	8,205	95,338	89,072	6,266
Trung bình			8,19			6,41
Độ lệch chuẩn			0,05			0,13

Bảng 11 thể hiện kết quả so sánh khối lượng (tính bằng g) rễ con của lúa mạch được nảy mầm bằng phương pháp theo sáng chế (48 giờ WA) và của lúa mạch ngâm bằng các phương pháp thông thường (tạo mạch nha 96 giờ). Hiển nhiên thấy rằng lúa mạch được nảy mầm bằng phương pháp theo sáng chế có lượng rễ con được tạo thành giảm đáng kể. Fig.13 thể hiện mức hao hụt trọng lượng sau khi loại bỏ rễ con tính bằng %.

Bảng 11

Đã bỏ vỏ 02_ 48 giờ WA	0,44	0,05
Không có vỏ 01_ 48 giờ WA	0,97	0,08
Đã bỏ vỏ 02_ Tạo mạch nha 96 giờ	6,41	0,13
Không có vỏ 01_ Tạo mạch nha 96 giờ	8,19	0,05

Ví dụ 11

Nitrosamin NDMA được tạo thành đặc biệt là trong các rễ trong khi sấy mạch nha bằng lò sấy (Wainwright (1986) J Inst Brew 92 73-80).). Như đã mô tả ở trên trong ví dụ 10, ưu điểm của các hạt ngũ cốc đã nảy mầm thu được bằng phương pháp theo sáng chế là chúng có ít rễ hơn so với mạch nha xanh thông thường. Hàm lượng NDMA trong mạch nha trong cùng thử nghiệm là thấp, tuy nhiên đây có thể là ưu điểm để giảm các mức này thêm nữa.

Hàm lượng NDMA được phân tích trong lúa mạch, trong các hạt lúa mạch đã nảy mầm thu được theo phương pháp của sáng chế (được ký hiệu là “Mạch nha 1a” trong ví dụ này) và trong ba loại mạch nha được sản xuất công nghiệp. Tất cả

các loại mạch nha được sản xuất công nghiệp đều được loại bỏ rễ con bằng các phương pháp chuẩn.

Lúa mạch-1, Mạch nha-1a và Mạch nha-1b đều được chuẩn bị từ cùng lô thuộc loại lúa mạch đã bỏ vỏ (Đã bỏ vỏ 02), trong khi đó hai mẫu mạch nha khác, Mạch nha-2 và Mạch nha-3 cả hai đều thu được từ các lô lúa mạch khác. Mạch nha-1a được chuẩn bị về cơ bản như đã mô tả ở trên trong ví dụ 1. Do đó, các hạt lúa mạch được khử trùng bằng nước rửa hypocloran 0,1% trong 1 giờ, sau đó ngâm và nảy mầm bằng cách ủ trong 48 giờ trong nước máy chứa GA 1000 nM và chất chống tạo bọt với nồng độ 0,01%. Việc ủ được thực hiện ở 25°C, và không khí với lưu lượng 90 l/giờ được dẫn qua nước từ đáy của thùng chứa trong toàn bộ quá trình ủ.

Lúa mạch đã nảy mầm được làm khô lạnh trước khi phân tích hàm lượng NDMA bằng GC-MS. Các kết quả được thể hiện trên Fig.14. Phân tích này cho thấy rõ ràng là NDMA có mặt trong Mạch nha-1a với hàm lượng ít hơn so với các mạch nha được sản xuất bằng phương pháp tạo mạch nha chuẩn, bao gồm sấy bằng lò sấy, mặc dù phương pháp chuẩn này cũng bao gồm việc loại rễ.

Kết luận

Các thử thách về việc thiếu hụt nước và năng lượng trong tương lai phải được giải quyết theo cách có tinh thần trách nhiệm về mặt xã hội, kinh tế và môi trường. Liên quan đến khía cạnh này, sáng chế đã góp phần vào sự phát triển bền vững dài hạn đối với việc sản xuất bia bằng cách sử dụng nước và năng lượng ít đi. Thông qua việc loại bỏ quá trình sấy khô bằng lò sấy, kết hợp với việc tích hợp bước ngâm và nảy mầm vào trong quá trình nấu bia, việc áp dụng phương pháp theo sáng chế đã làm giảm rất lớn chi phí đầu vào và chi phí vận hành trong quá trình sản xuất bia.

Sáng chế có thể góp phần làm giảm các chi phí đầu vào và làm giảm áp lực môi trường cho ngành công nghiệp sản xuất mạch nha và sản xuất bia theo nhiều cách khác nhau, bao gồm:

- Quá trình ngâm và nảy mầm mà hiện nay thường cần vài ngày để hoàn thành có

thể được hoàn thành nhanh hơn nhiều

- Quá trình ngâm và nảy mầm có thể được tiến hành trong một bình chứa duy nhất ở tại một địa điểm duy nhất
- Bước để yên trong không khí và bước ngâm thứ hai theo truyền thống trong quy trình sản xuất mạch nha có thể được loại bỏ
- Các quy trình này có thể làm giảm lượng nước tiêu thụ, ví dụ lên tới 40%
- Chi phí gia nhiệt đất đỏ để sấy mạch nha bằng lò sấy có thể được loại bỏ
- Chi phí vận chuyển đất đỏ để vận chuyển mạch nha từ xưởng sản xuất mạch nha đến nhà máy sản xuất bia có thể được loại bỏ
- Thiết bị và máy móc cần để thực hiện phương pháp theo sáng chế có thể tương thích với các thiết bị sẵn có trong các nhà máy sản xuất bia và do đó, sẽ không cần chi phí vốn ban đầu lớn.

Tài liệu chuyên ngành được trích dẫn

Bamforth C (2009) In: Beer: Tap into the art and science of brewing. Oxford University Press.

Briggs DE (1998) In: Malts and Malting. Blackie &, Professionals.

Burton RA, Wilson SM, Hrmova M, Harvey AJ, Shirley NJ, Medhurst A, Stone BA, Newbigin EJ, Bacic A and Fincher GB (2006) Cellulose Synthase-like CslF Genes Mediate the Synthesis of Cell Wall (1,3;1,4)- β -d-Glucans. Science 311, 1940-1942.

Burton RA, Jobling SA, Harvey AJ, Shirley NJ, Mather DE, Bacic A, Fincher GB (2008) The genetics and transcriptional profiles of the cellulose synthase-like HvCslF gene family in barley (*Hordeum vulgare* L.). Plant Physiol., 146: 1821-1833.

Burton RA, Collins HM, Kibble NAJ, Smith JA, Shirley NJ, Jobling SA, Henderson M, Singh RR, Pettolino F, Wilson SM, Bird AR, Topping DL, Bacic A and Fincher GB (2011) Over-expression of specific HvCslF cellulose

- synthase-like genes in transgenic barley increases the levels of cell wall (1,3;1,4)- β -d-glucans and alters their fine structure. *Plant Biotechnol. J.*, 9: 117-135.
- Fincher GB (2011) Biochemistry, Physiology and Genetics of Endosperm Mobilization in Germinated Barley Grain. In: *Barley: Production, Improvements and Uses*. Ed. Ullrich SE, Wiley-Blackwell, Chương 14, trang 449-477.
- Smith AM, Zeeman S.C, Smith SM (2005) Starch Degradation. *Annual Review of Plant Biology* 56: 73-98.
- Taketa, S., Yuo, T., Tonooka, T., Tsumuraya, Y., Inagaki, Y., Haruyama, N., Larroque, O., and Jobling, S. A. (2011) Functional characterization of barley beta-glucanless mutants demonstrates a unique role for CslF6 in (1,3;1,4)- β -d-glucan biosynthesis, *J. Exp. Bot.* 63, 381-392.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp tạo ra nước chiết ngũ cốc, phương pháp này bao gồm các bước:
 - a. cung cấp các hạt ngũ cốc;
 - b. cho các hạt ngũ cốc này trải qua bước nảy mầm, nhờ đó thu được các hạt đã nảy mầm, trong đó bước nảy mầm này bao gồm việc ủ các hạt nêu trên trong dung dịch nước cho đến khi các hạt có hàm lượng nước thấp nhất là 30%, trong đó ít nhất là 2l O₂ trên kg trọng lượng khô hạt ngũ cốc trên giờ được cho đi qua dung dịch nước nêu trên;
 - c. nghiền mịn các hạt đã nảy mầm nêu trên, trong khi đó các hạt đã nảy mầm này có hàm lượng nước thấp nhất là 20%, với điều kiện là các hạt ngũ cốc nêu trên không có hàm lượng nước thấp hơn 20% ở thời điểm bất kỳ giữa các bước b) và c);
 - d. tạo ra nước chiết của các hạt đã nảy mầm đã nghiền nêu trên, nhờ đó tạo ra nước chiết ngũ cốc.
2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó các hạt ngũ cốc được nhúng chìm trong dung dịch nước trong toàn bộ bước nảy mầm.
3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bước nảy mầm bao gồm
 - i. ít nhất là một bước ủ các hạt nêu trên trong dung dịch nước, trong đó ít nhất là 2l O₂ trên kg trọng lượng khô các hạt ngũ cốc trên giờ được cho đi qua dung dịch nước nêu trên; và
 - ii. ít nhất là một bước ủ các hạt ngũ cốc trong không khí.
4. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bước nảy mầm bao gồm hoặc gồm có:
 - a. bước ủ hạt trong dung dịch nước, trong đó khí O₂ với lượng giữa 2 và 100 L trên kg trọng lượng hạt ngũ cốc khô được cho đi qua dung dịch nước này mỗi giờ;
 - b. bước nghỉ trong không khí, trong đó hạt ngũ cốc được ủ trong không khí;
 - c. bước ủ hạt trong dung dịch nước, trong đó khí O₂ với lượng giữa 2 và 100 L trên kg trọng lượng hạt ngũ cốc khô được cho đi qua dung dịch nước này mỗi giờ; và
 - d. bước nghỉ trong không khí, trong đó hạt ngũ cốc được ủ trong không khí.

5. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó bước nghi trong không khí là không có mặt dung dịch nước.
6. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm trước đó, trong đó ít nhất là 3l, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 4l, còn tốt hơn nữa nếu ít nhất là 5l, thậm chí tốt hơn nữa nếu ít nhất là 6l O₂ trên kg trọng lượng khô các hạt ngũ cốc trên giờ được cho đi qua dung dịch nước.
7. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm trước đó, trong đó O₂ được bao gồm trong hỗn hợp khí, trong đó hỗn hợp khí này là không khí.
8. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm trước đó, trong đó toàn bộ thời gian của bước nảy mầm không vượt quá 72 giờ, tốt hơn nếu không vượt quá 60 giờ, thậm chí tốt hơn nếu không vượt quá 54 giờ.
9. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm trước đó, trong đó ngũ cốc là ngũ cốc đã bỏ vỏ, và phương pháp này bao gồm bước loại bỏ ít nhất là một phần vỏ trước khi ủ các hạt trong dung dịch nước.
10. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm trước đó, trong đó các hạt đã nảy mầm mang nhiều nhất là 4g rễ con (chất khô) trên 100g các hạt ngũ cốc đã nảy mầm (chất khô).
11. Phương pháp tạo ra nước chiết ngũ cốc, phương pháp này bao gồm các bước:
 - A. cung cấp các hạt ngũ cốc đã nảy mầm có hàm lượng nước thấp nhất là 20% với điều kiện là các hạt ngũ cốc nêu trên không có hàm lượng nước dưới 20% ở thời điểm bất kỳ sau khi nảy mầm, trong đó ngũ cốc là đại mạch đặc trưng bởi việc mang đột biến gen mã hóa MMT, và trong đó toàn bộ bước nảy mầm hạt được nảy mầm này không quá 72 giờ;
 - B. nghiền mịn các hạt đã nảy mầm nêu trên, trong khi đó các hạt đã nảy mầm này có hàm lượng nước thấp nhất là 20%;
 - C. tạo ra nước chiết từ các hạt đã nảy mầm đã nghiền nêu trên, nhờ đó tạo ra nước chiết ngũ cốc.
12. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm trước đó, trong đó ngũ cốc là lúa mạch.

13. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm trước đó, trong đó các hạt đã nảy mầm có hoạt tính α -amylaza thấp nhất là 4 U/g hạt ngũ cốc tính trên trọng lượng khô.
14. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm trước đó, trong đó các hạt đã nảy mầm có hoạt tính β -amylaza thấp nhất là 5 U/g hạt ngũ cốc tính trên trọng lượng khô.
15. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm trước đó, trong đó các hạt đã nảy mầm có hoạt tính dextrinaza giới hạn thấp nhất là 5 mU/g hạt tính trên trọng lượng khô.
16. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm trước đó, trong đó các hạt đã nảy mầm mang nhiều nhất là 4g rễ con (chất khô) trên 100g các hạt ngũ cốc đã nảy mầm (chất khô).
17. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm trước đó, trong đó nước chiết chứa ít nhất là 10 g, như ít nhất là 15g maltoza trên l.
18. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm trước đó, trong đó nước chiết chứa ít nhất là 60 mg/l valin.
19. Phương pháp sản xuất đồ uống, phương pháp này bao gồm các bước:
 - i. tạo ra nước chiết bằng phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm trước đó;
 - ii. xử lý nước chiết nêu trên thành đồ uống.
20. Phương pháp theo điểm 19, trong đó bước ii bao gồm các bước:
 - a. gia nhiệt nước chiết tùy ý với sự có mặt của hoa bia hoặc chất chiết hoa bia;
 - b. làm nguội nước chiết;
 - c. lên men nước chiết nêu trên bằng nấm men, nhờ đó tạo ra đồ uống lên men.

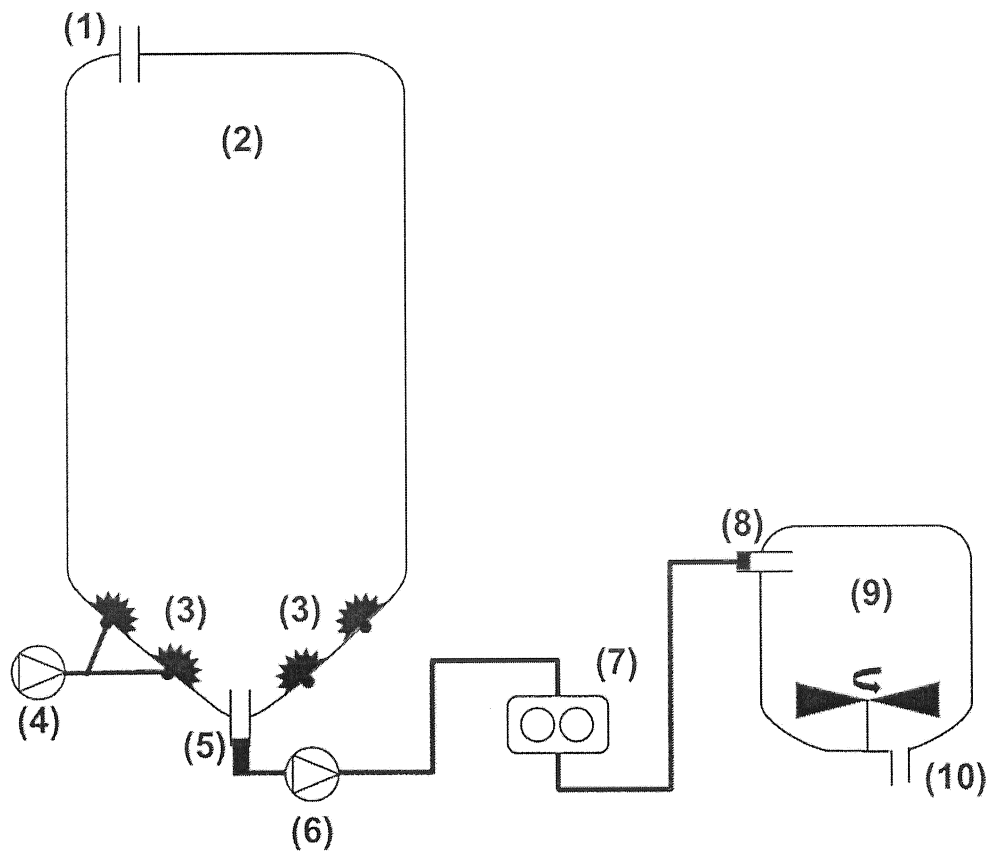


Fig. 1

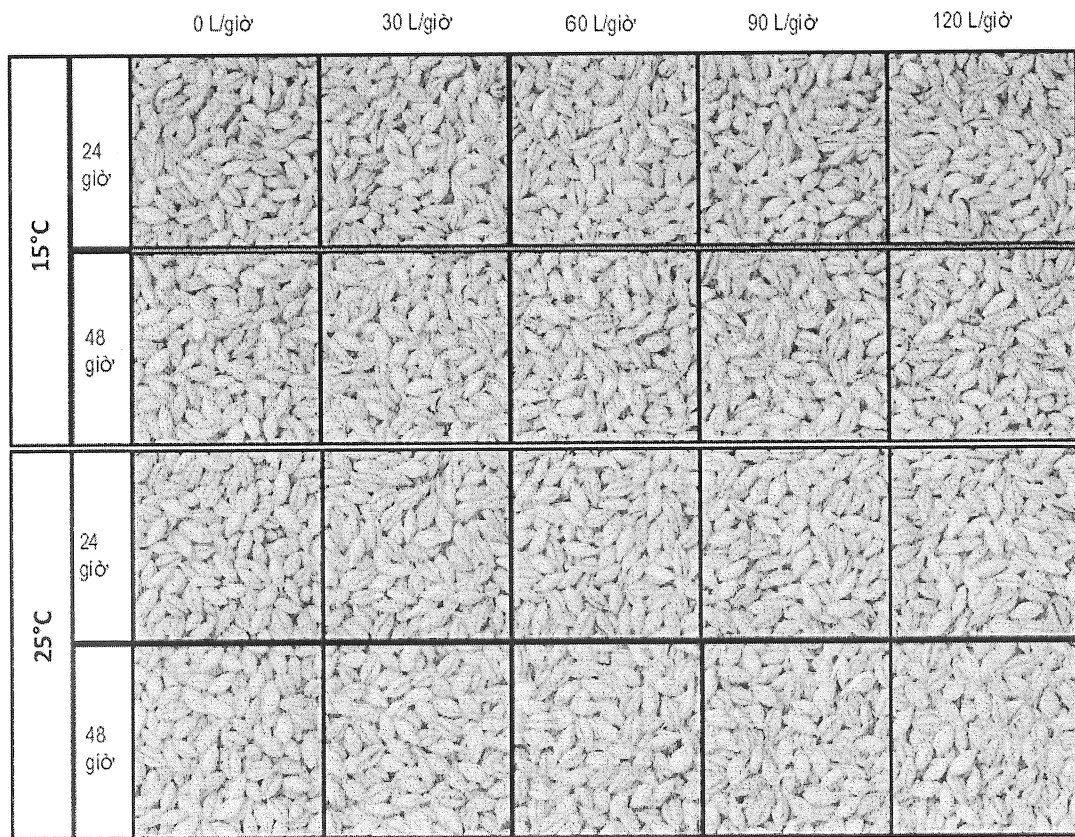
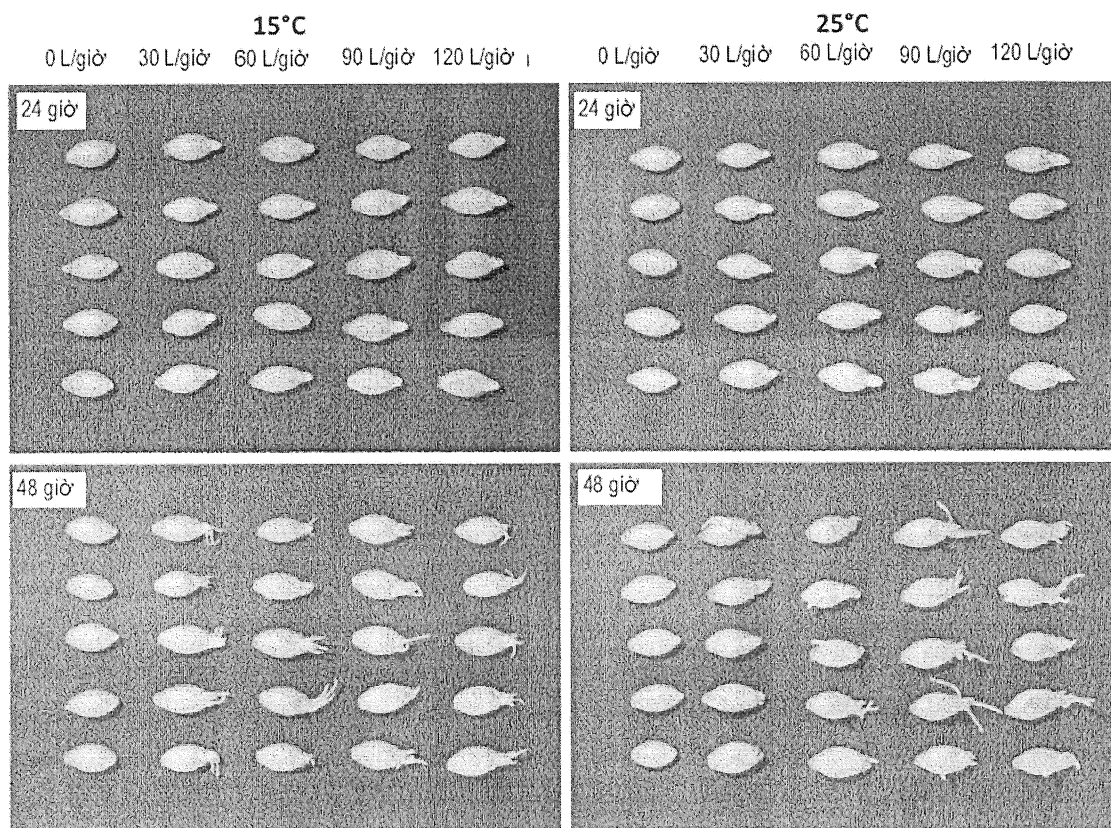


Fig. 2A



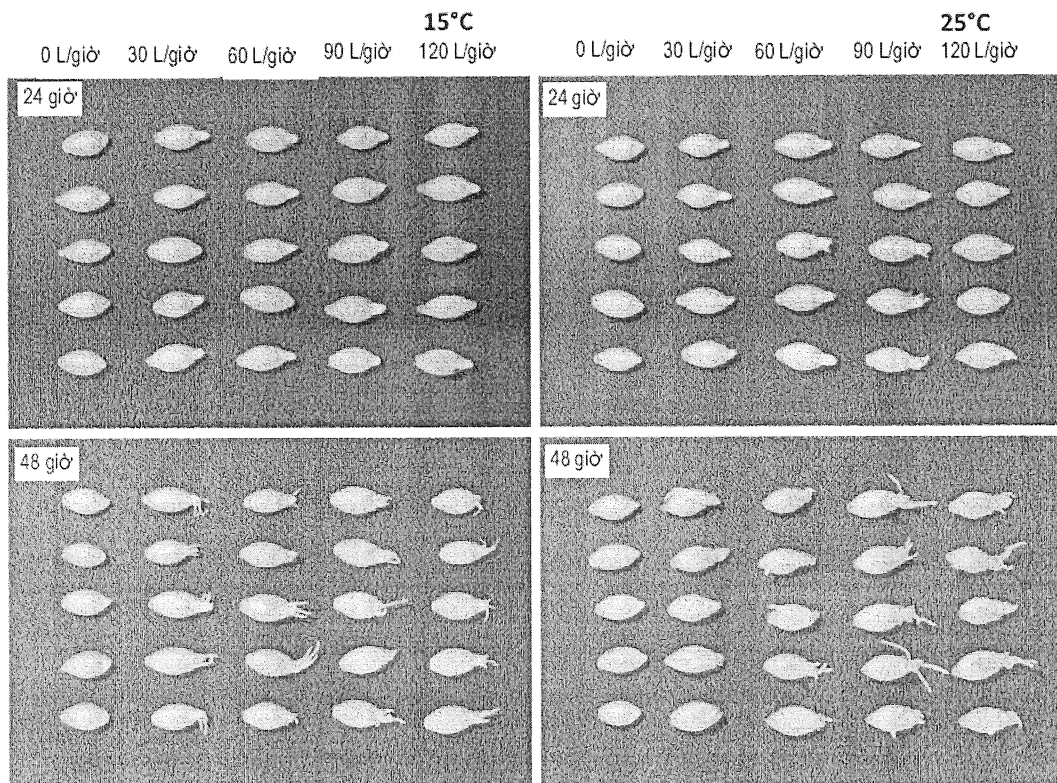


Fig. 2B

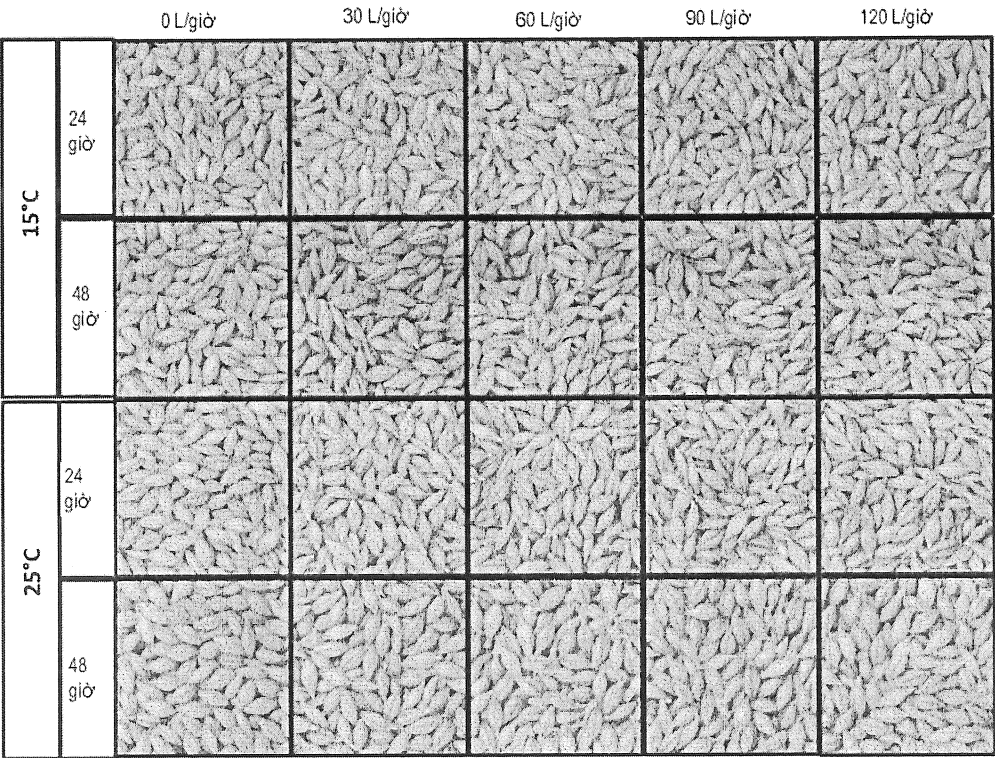


Fig. 3A

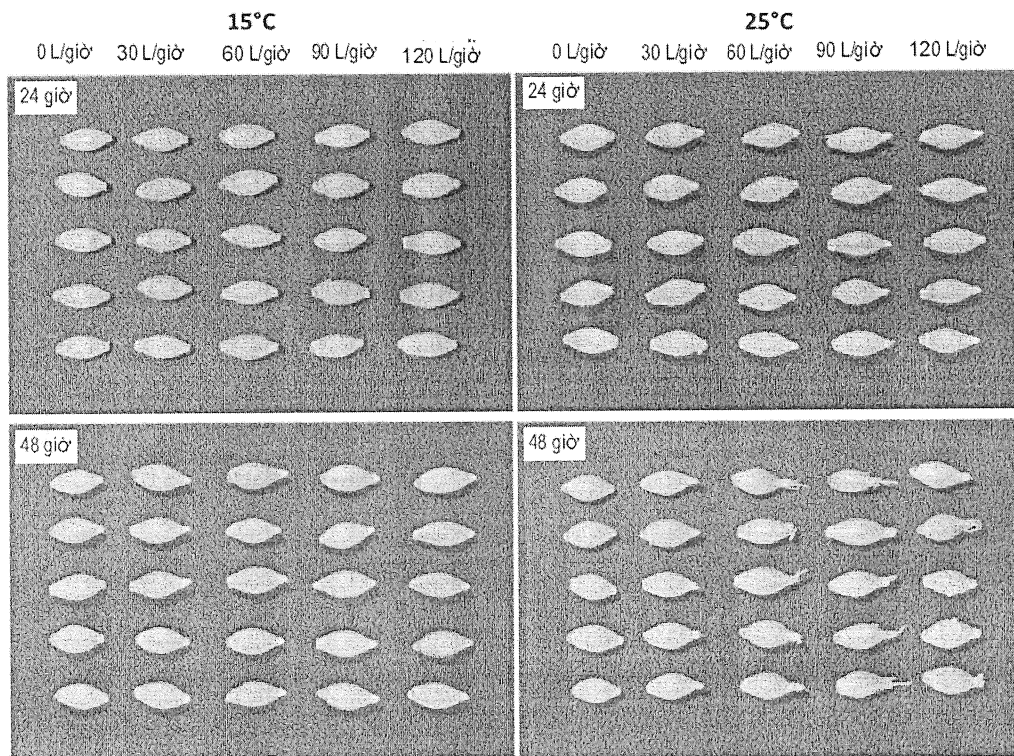


Fig. 3B

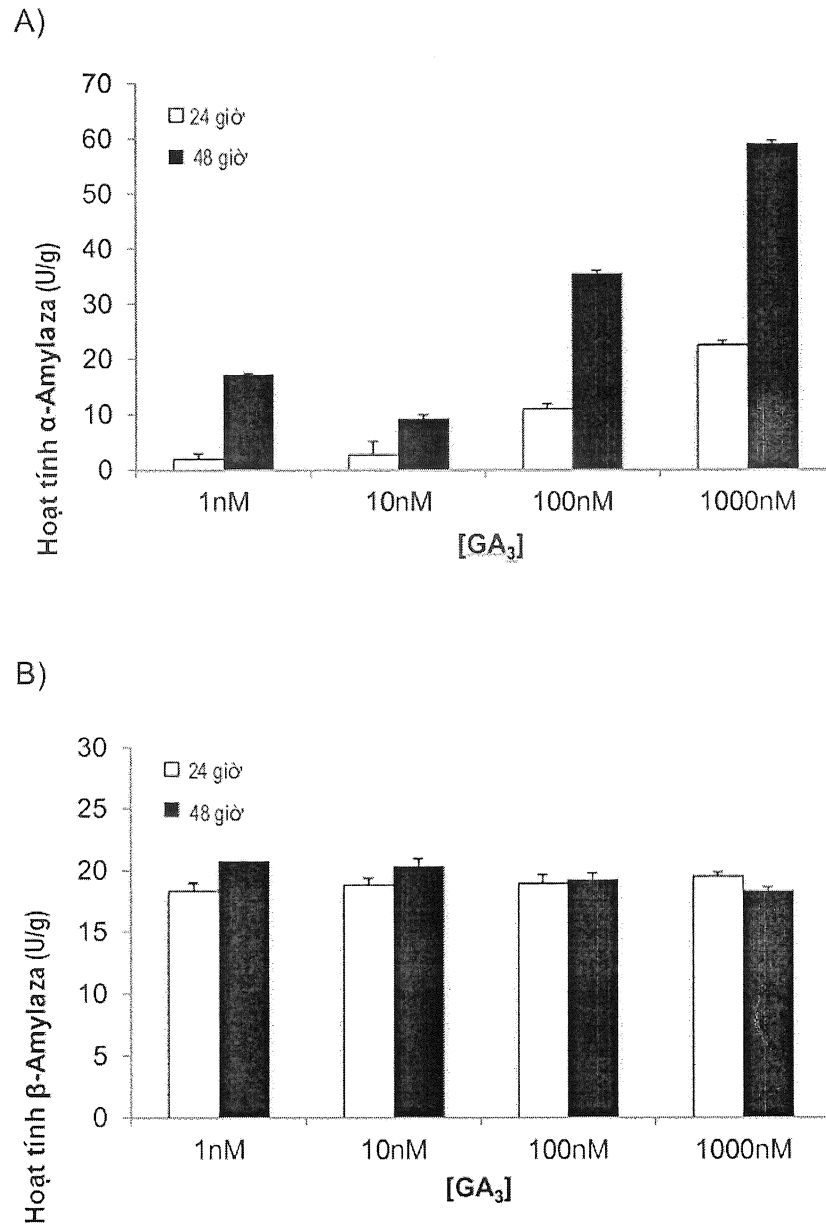


Fig. 4

C)

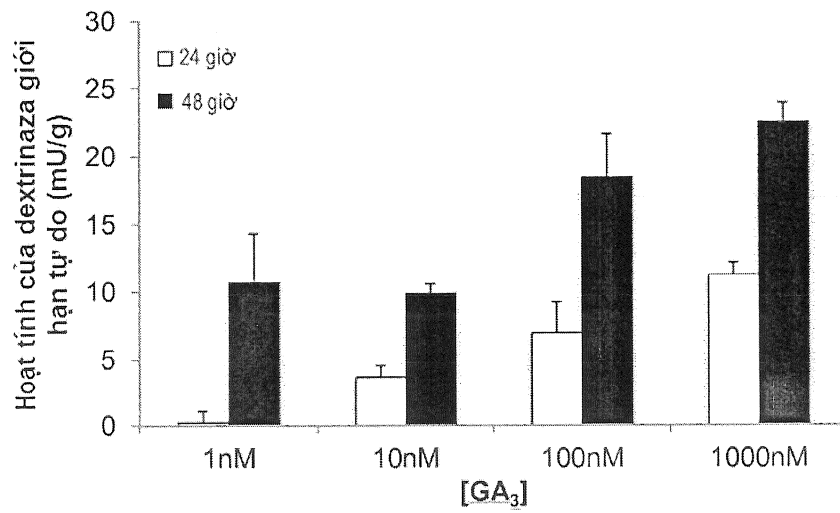


Fig. 4 - Tiếp theo

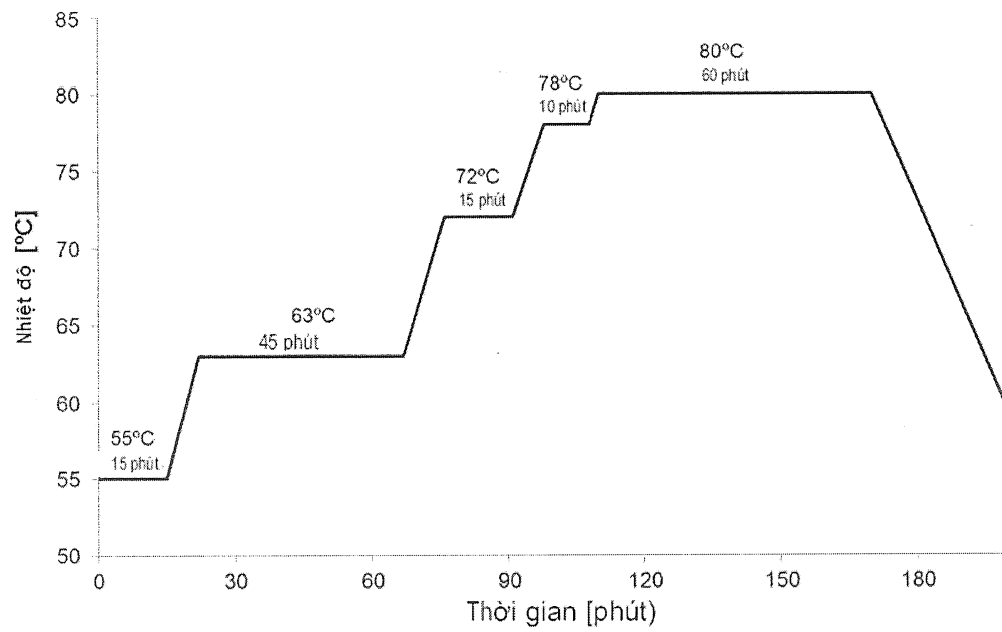


Fig. 5

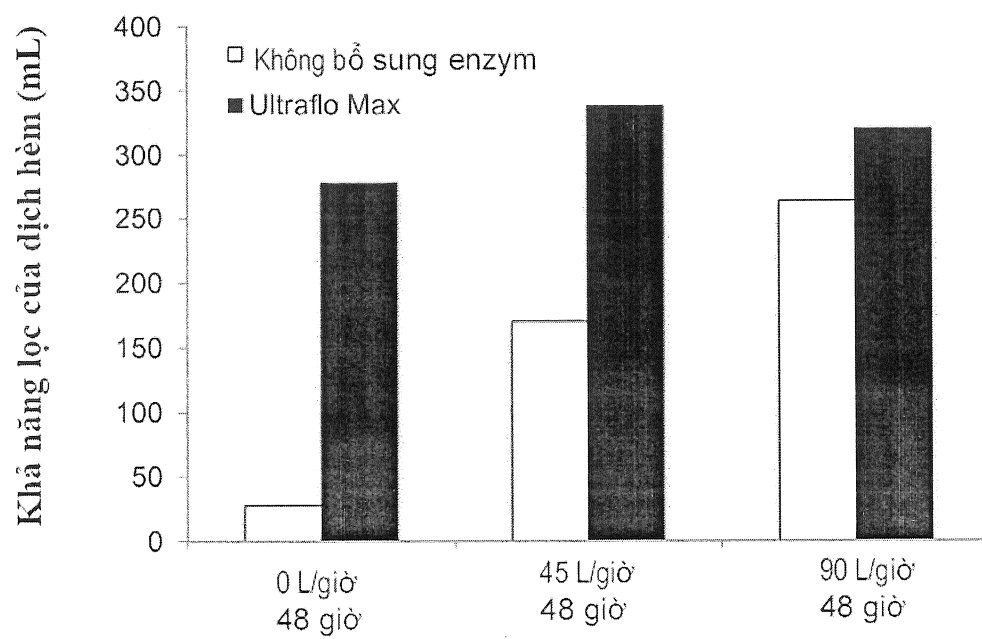


Fig. 6

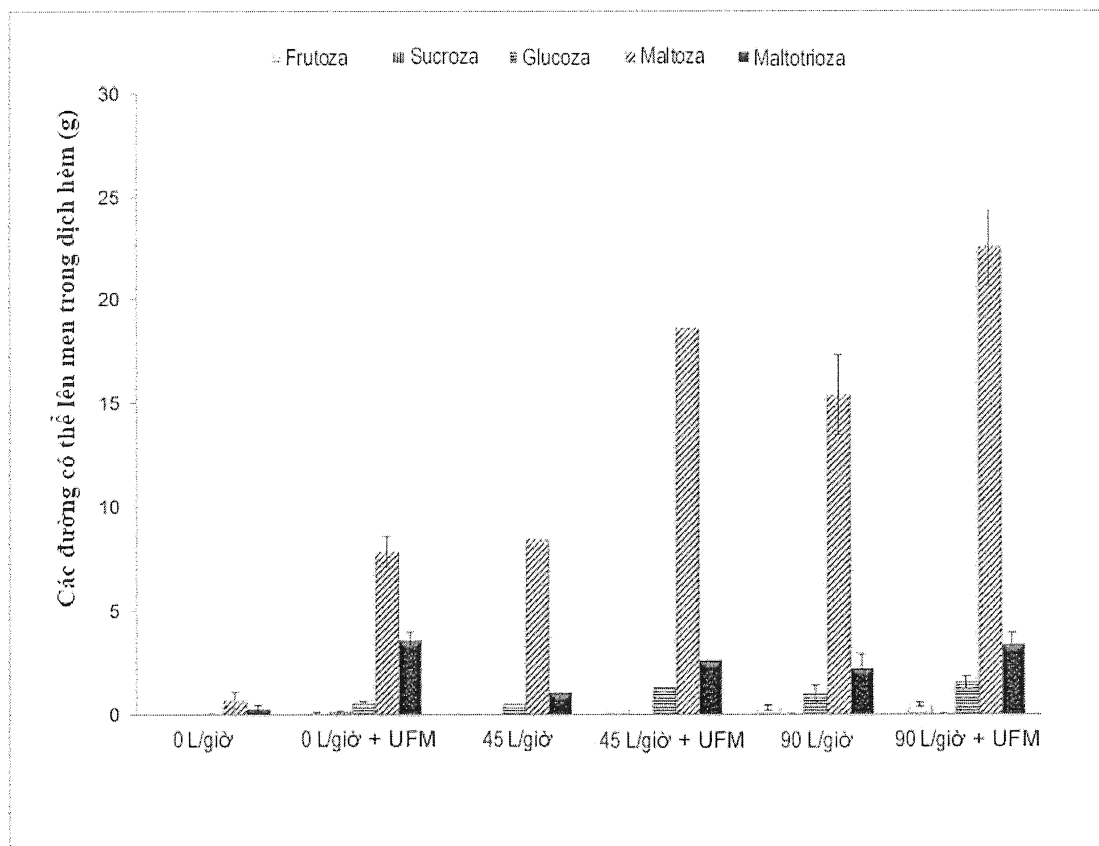


Fig. 7

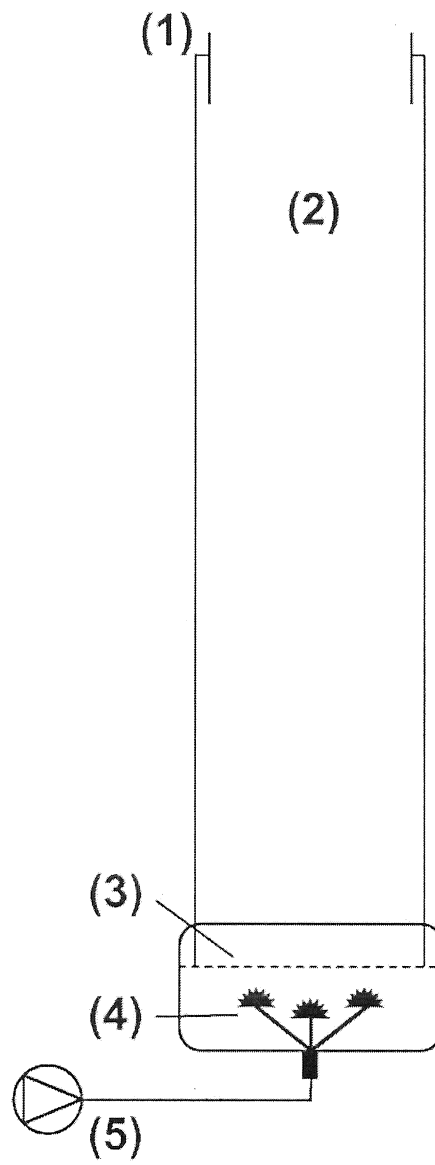


Fig. 8

13 / 19

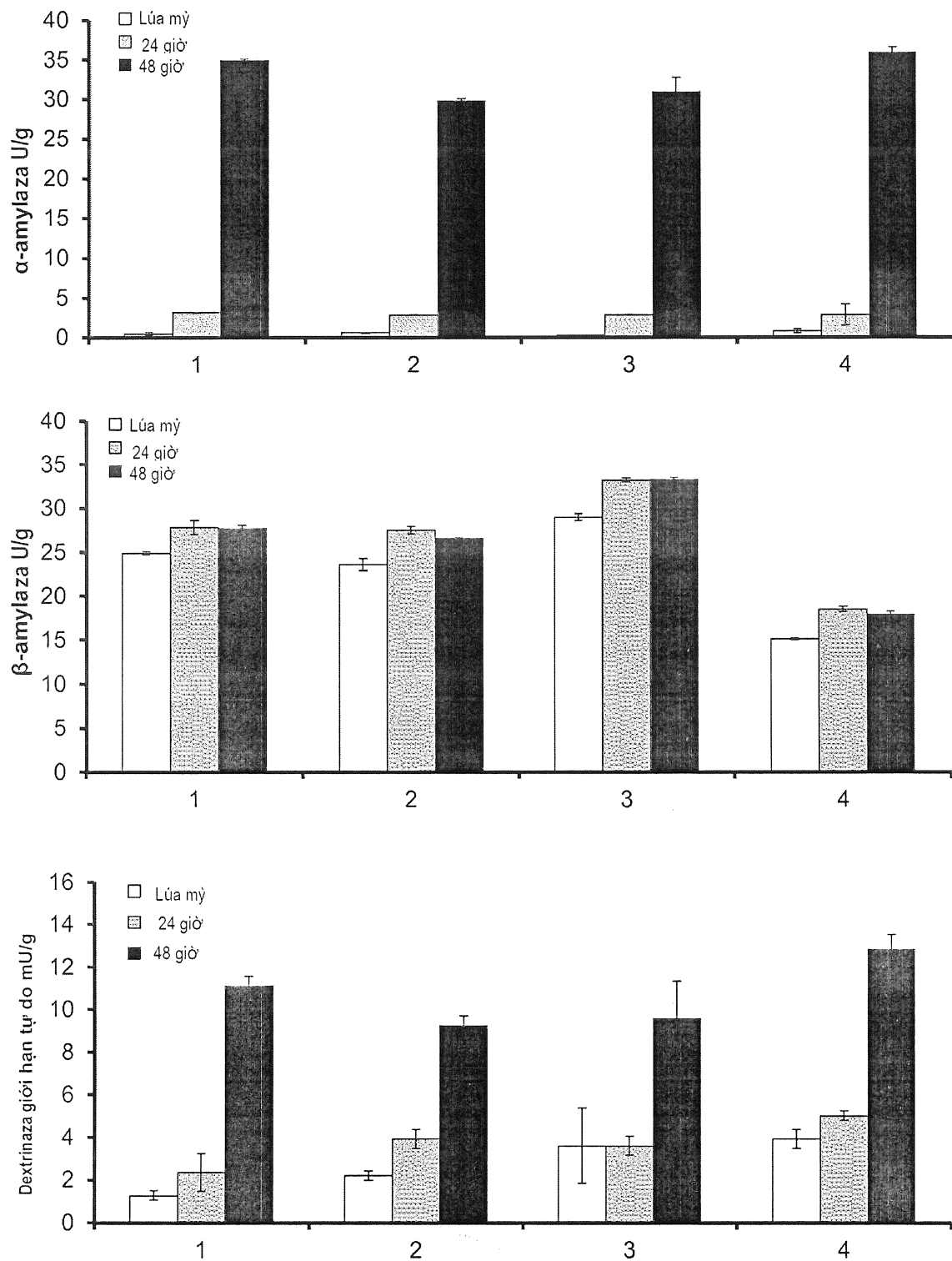


Fig. 9

14 / 19

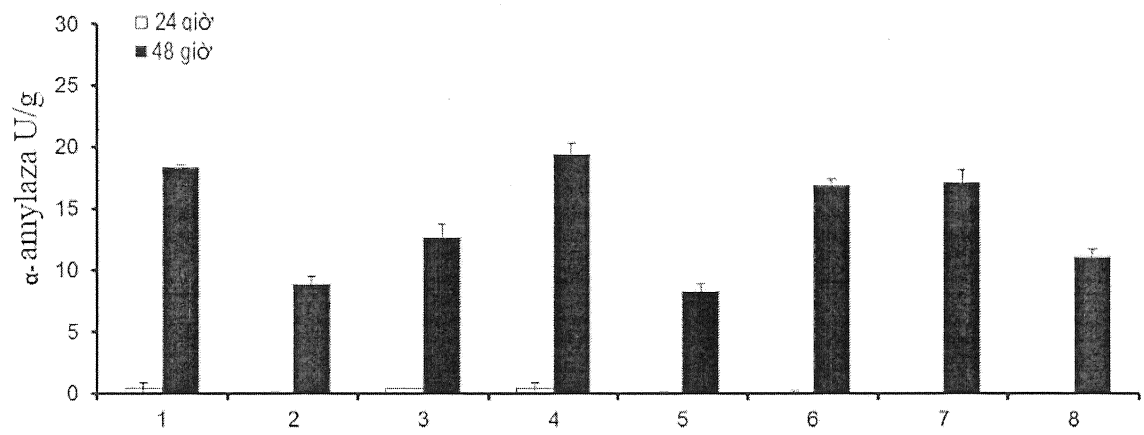


Fig. 10

15 / 19

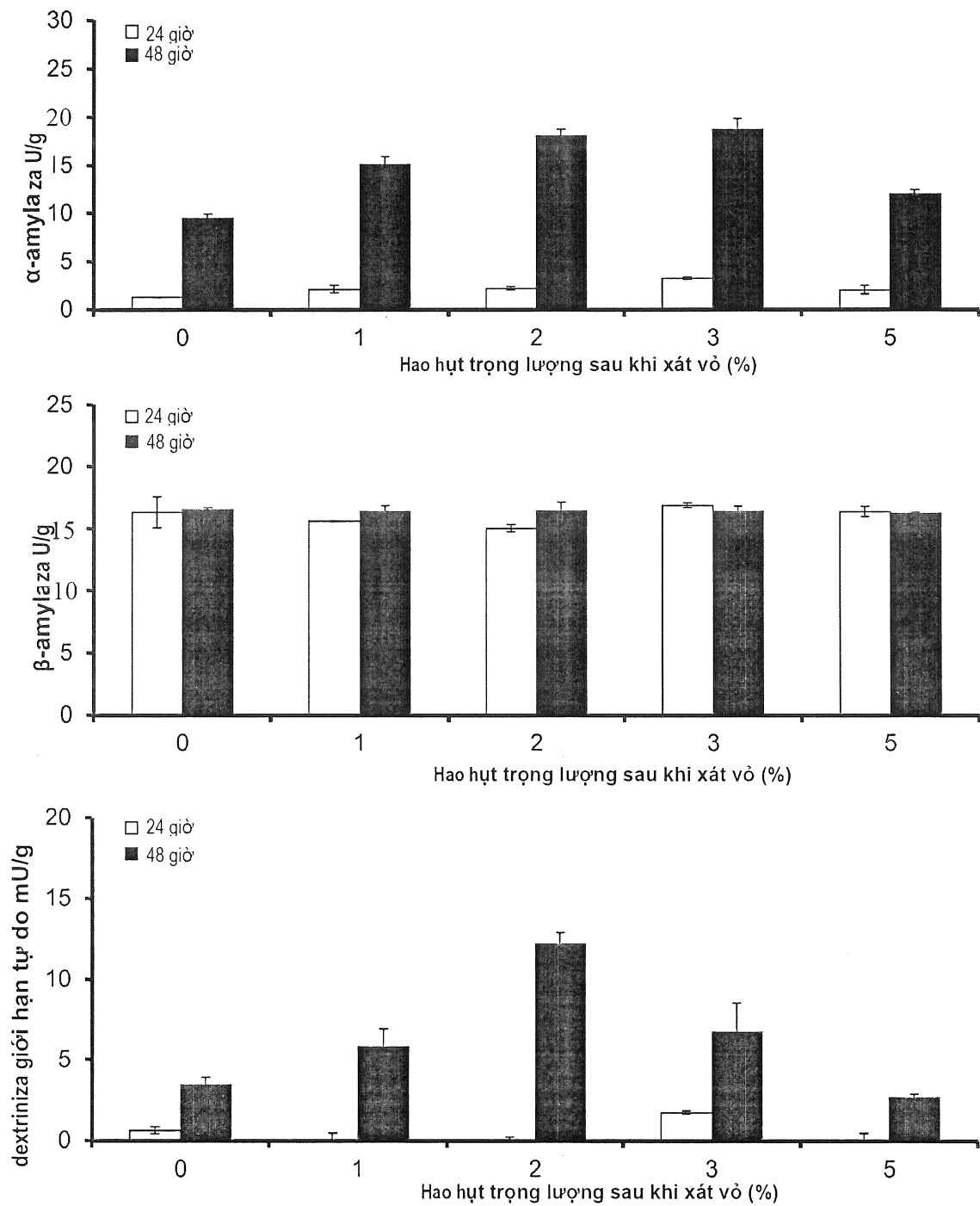


Fig. 11

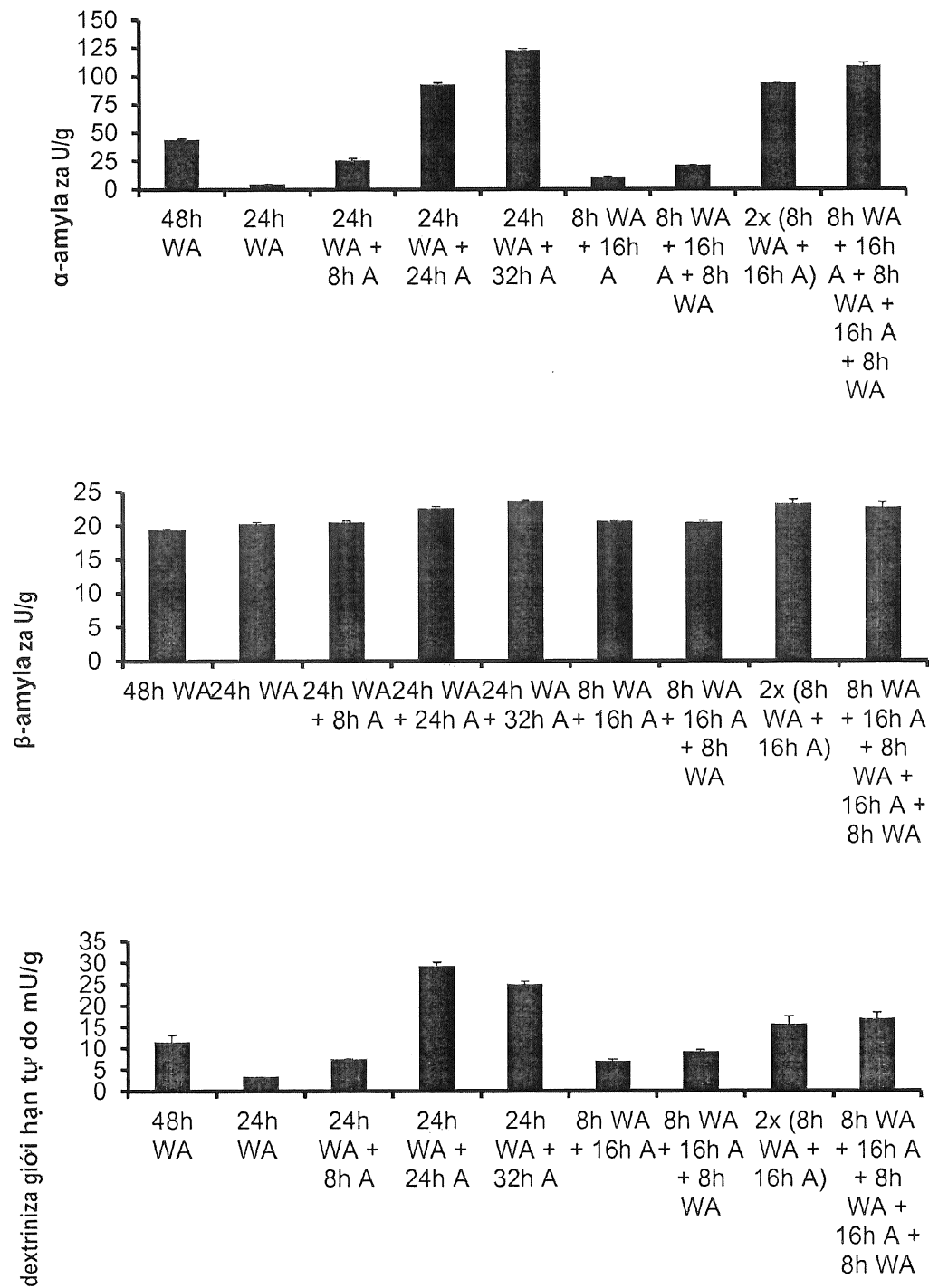


Fig. 12A

17 / 19

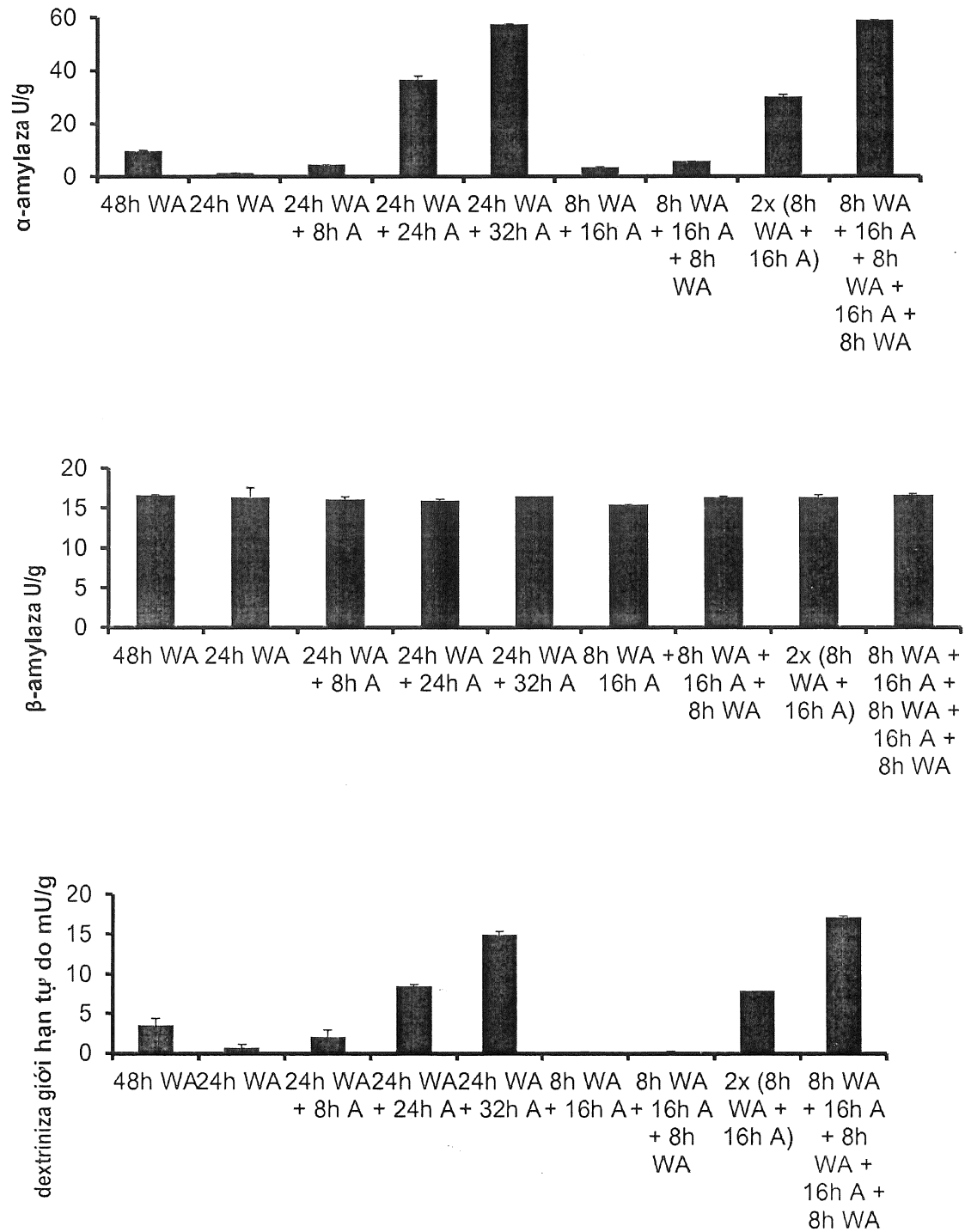


Fig. 12B

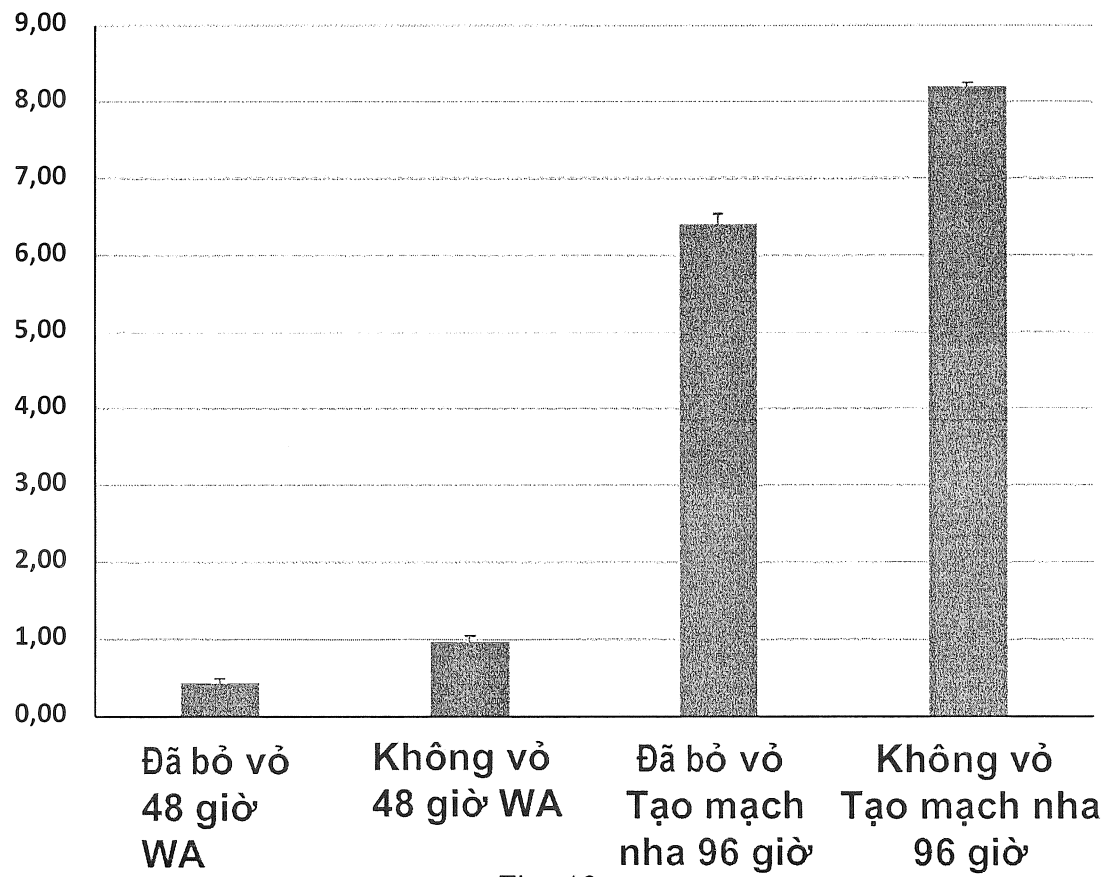


Fig. 13

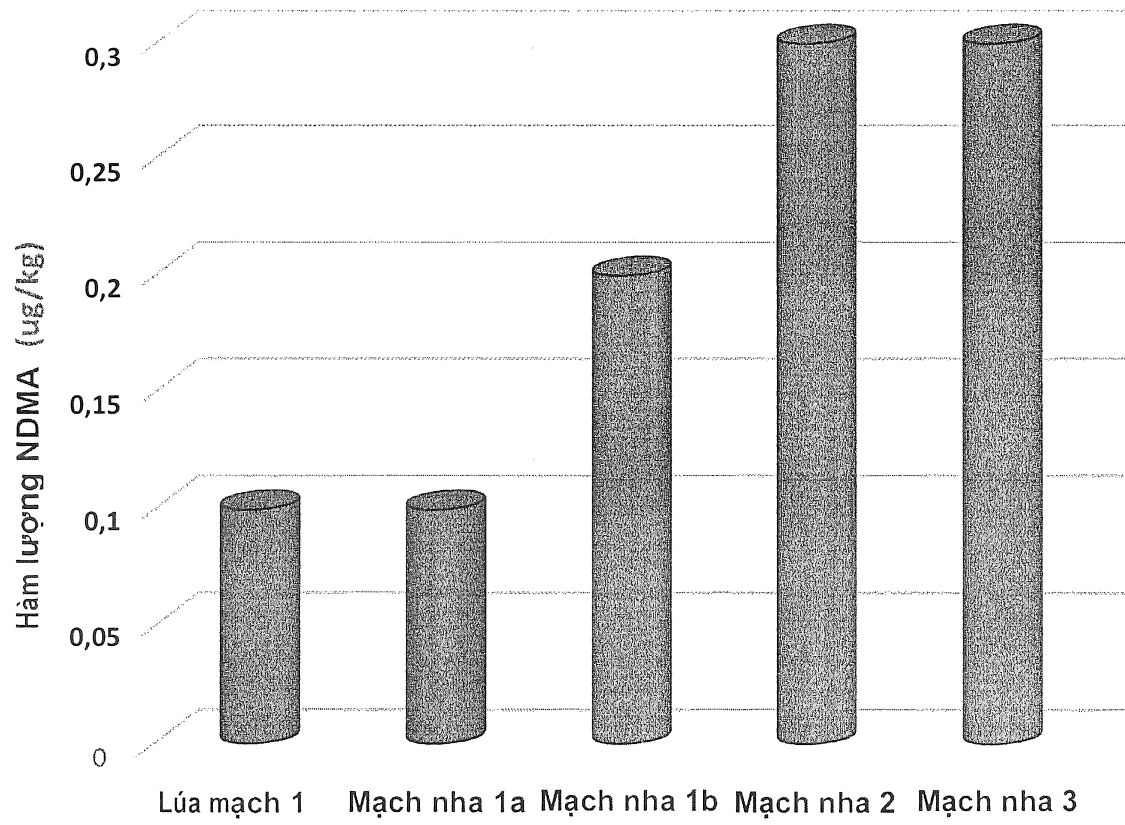


Fig. 14