

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201891720** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
2019.01.31

(51) Int. Cl. *C12C 3/12* (2006.01)  
*C12H 1/16* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2017.02.03

---

(54) **СВЕТСТОЙКИЙ ЭКСТРАКТ ХМЕЛЯ**

---

(31) 16154513.2

(32) 2016.02.05

(33) EP

(86) PCT/EP2017/052450

(87) WO 2017/134263 2017.08.10

(71) Заявитель:

**ХЕЙНЕКЕН СЭПЛАЙ ЧЭЙН Б.В.  
(NL)**

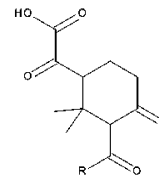
(72) Изобретатель:

**Браувер Эрик Ричард, Деконинк  
Тинне, Ванбенеден Неле, Ван Вен  
Марсель, Схаутен Мария Элизабет  
Вилхелмина (NL)**

(74) Представитель:

**Медведев В.Н. (RU)**

(57) Изобретение относится к светостойкому экстракту хмеля, содержащему не менее 1 г/кг сухого вещества одного или большего количества полученных из хмеля соединений, описываемых формулой (I)



в которой R=-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> или -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Настоящее изобретение также относится к применению светостойкого экстракта хмеля в пиве и к способу получения такого экстракта хмеля.

**201891720**

**A1**

**A1**

**201891720**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-551740ЕА/026

### СВЕТСТОЙКИЙ ЭКСТРАКТ ХМЕЛЯ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к светостойким экстрактам хмеля и к применению таких экстрактов хмеля в пиве. Настоящее изобретение также относится к способу получения такого светостойкого экстракта хмеля, указанный способ включает освещение предварительно изомеризованного экстракта хмеля.

### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Шишки хмеля являются женскими цветками растения хмеля *Humulus lupulus*. Их используют в качестве ингредиента в пиве, которому они придают горький, пикантный вкус. Шишки хмеля обычно сушат в хмелесушильне и затем их используют в технологии пивоварения. В способе технологии сусло (обогащенная сахаром жидкость, полученная из солода) кипятят с шишками хмеля, затем его охлаждают и для начала брожения и добавляют дрожжи.

Кипячение сусла с шишками хмеля приводит к экстракции альфа-кислот (гумулоны, такие как гумулон, адгумулон, когумулон, постгумулон и прегумулон) в несброженное сусло, которые под влиянием нагревания (термическая изомеризация) частично изомеризуются в соответствующие изо-альфа-кислоты (изокогумулоны). Эти изо-альфа-кислоты обеспечивают характерный горький вкус хмелевого пива. Типичные содержания альфа-кислоты в сусле а начале кипячения сусла составляют менее 0,01 мас.% (менее 100 част./млн). Недостатком этой традиционной методики охмеления для придания горечи являются неэффективная экстракция альфа-кислоты и изомеризация, обычно приводящая к выходам изо-альфа-кислоты, составляющим менее 40%.

Степень использования хмеля можно значительно улучшить путем проведения изомеризации альфа-кислоты отдельно от процедуры пивоварения. Для этого разработаны предварительно изомеризованные продукты из хмеля. Эти предварительно изомеризованные продукты из хмеля получают с использованием экстракта хмеля в качестве исходного материала.

Экстракты хмеля обычно получают путем экстракции жидким или

надкритическим диоксидом углерода. Экстрагированные диоксидом углерода экстракты хмеля содержат в основном альфа-кислоты (гумулоны) вместе с бета-кислотами (лупулоны) и их можно дополнительно фракционировать и получить обогащенные альфа-кислотой экстракты хмеля. Исходя из этих содержащих альфа-кислоты экстрактов, проводимую независимо предварительную изомеризацию альфа-кислот отдельно от процедуры пивоварения (кипячения сусла) можно обеспечить путем использования соединений на основе щелочного металла и/или щелочноземельного металла в двух схемах. В первой схеме используют не содержащую растворителя реакционную среду, а во второй схеме превращение проводят после добавления растворителей, чистой воды или, альтернативно, воды, смешанной с органическим растворителем.

, описанной в публикации

Известна изомеризация альфа-кислот в изо-альфа-кислоты путем фотолиза. Например, в AU 7540281 описан способ увеличения количества горьких веществ, получаемых из шишек хмеля, и точнее, практически чистые альфа- и бета-кислоты, полученные из высокоочищенного экстракта хмеля, в частности, путем обработки жидким диоксидом углерода, отличающийся тем, что альфа- и/или бета-кислоты подвергают фотолизу путем освещения солнечным светом в течение заранее заданного времени при условиях, адаптированных для обеспечения оптимального квантового выхода при подходящей температуре, предпочтительно близкой к 60°C, с получением соответственно изо-альфа-кислоты и дезокси-альфа-кислоты.

В US 4767640 описан способ получения светостойкого хмелевого продукта, который в основном состоит из восстановленных изокогумулонов и менее 0,5% невосстановленных изокогумулонов и нестабильных продуктов, которыми являются неизокогумулоны. В примере 1 описан способ, в котором изомеризованный экстракт хмеля восстанавливали, затем подкисляли и разделяли водный слой и масляный слой. Полученный таким образом масляный экстракт содержал 70% восстановленного изокогумулона, 6,5% примесного материала и менее 0,5%

невосстановленного изогумулону. В примере 3 показано, как масляный экстракт дополнительно очищали и получали "дополнительно очищенную водную фазу" и "дополнительно очищенную масляную фазу". В примере 4 описано хроматографическое разделение масляного экстракта примера 1 на три фракции. В примере 5 описан эксперимент, в котором исследована светостойкость указанных выше очищенных экстрактов ("дополнительно очищенной водной фазы" и "дополнительно очищенной масляной фазы") и трех хроматографических фракций. Это проводили путем добавления этих материалов к пиву и облучения в течение 2 ч флуоресцентным излучением с освещенностью 600 фут-свечей.

В WO 93/02177 описан способ получения стабилизирующего пену и придающего горечь средства для солодового напитка, отличающийся экстрагированием шишек хмеля при условиях, которые благоприятствуют отделению и извлечению фракции, обогащенной адпрегумулоном, и проведение фотоизомеризации содержащей адпрегумулон фракции с получением изоадпрегумулону.

Хорошо известно, что вкусовые качества пива ухудшаются при воздействии света, явление, которое обычно называют появлением "светового" или "солнечного" привкуса и которое обусловлено вызванным светом разложением изо-альфа-кислот.

Формальный механизм появления светового привкуса у пива в модельных системах, состоящих из изокогумулонов, рибофлавина и цистеина, при воздействии излучения в видимой области спектра предложили Kuroiwa et al. еще в 1963. Фотовозбужденный рибофлавин вызывает расщепление изокогумулонов в 4-метилпент-3-еноильный радикал, который декарбонируется в 3-метилбут-2-енильный радикал. Захват этого стабилизированного аллильного радикала тиольным радикалом, образовавшимся из цистеина, приводит к образованию 3-метилбут-2-ен-1-тиола (3-МВТ), вещества, обеспечивающего световой привкус. 3-МВТ обладает чрезвычайно низким порогом вкусового ощущения, равным примерно или менее 1 част./триллион.

Для реакции образования 3-МВТ в пиве кроме изо-альфа-кислот необходим свет в области спектра в диапазоне 300-550 нм,

фотосенсибилизатор (например, рибофлавин, т. е. витамин В<sub>2</sub>) и источник серы (например, серусодержащая аминокислота).

Фотолитическое разложение изо-альфа-кислот является следствием наличия изо-3-гексеноильной боковой цепи в молекулах изо-альфа-кислот. Путем изменения структуры молекул изо-альфа-кислот, а именно, путем восстановления связей С=С и/или С=О в изо-3-гексеноильной боковой цепи можно предупредить образование значительного количества 3-МВТ в пиве.

Восстановленные производные изо-альфа-кислот, которые имеются в продаже, содержат дигидро-, тетрагидро- и/или гексагидроизо-альфа-кислоты, и их обычно добавляют после первичной стадии брожения в технологии пивоварения. Дигидроизо-альфа-кислоты (также называемые ро-изо-альфа-кислотами) получают восстановлением карбонильной группы указанной выше изо-3-гексеноильной цепи в гидроксигруппу, обычно с использованием борогидрида щелочного металла в качестве восстановительного реагента. Тетрагидроизо-альфа-кислоты получают гидрированием связей С=С в указанной выше изо-3-гексеноильной боковой цепи и изопентенильной боковой цепи. Гексагидроизо-альфа-кислоты получают путем объединения указанных выше реакций восстановления и гидрирования.

Необходим предварительно изомеризованный экстракт хмеля, который является светостойким, т. е. не оказывает существенного вклада в образование 3-МВТ в обработанном светом пиве, но который ранее химически не восстанавливали/не гидрировали.

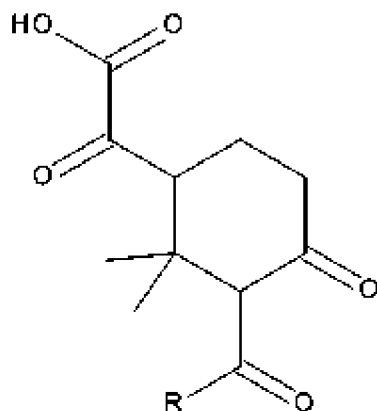
#### СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Авторы настоящего изобретения неожиданно установили, что светостойкость предварительно изомеризованных экстрактов хмеля можно значительно повысить с помощью освещения таких экстрактов хмеля солнечным светом. Хотя авторы настоящего изобретения не хотят ограничиваться теорией, они полагают, что в результате этого освещения изо-альфа-кислоты подвергаются фотолитическому разложению такого же типа, который приводит к образованию 3-МВТ в пиве. Однако при отсутствии важных реагентов (таких как тиолсодержащие соединения) реакционноспособные промежуточные продукты разложения, образующиеся во время освещения, которые в

ином случае участвуют в образовании 3-МВТ, превращаются в другие продукты реакции, которые не оказывают неблагоприятное влияние на вкус или стабильность вкуса пива.

Освещение предварительно изомеризованного экстракта хмеля в соответствии с настоящим изобретением значительно увеличивает светостойкость экстракта хмеля, но неожиданно оказывает не более, чем ограниченное влияние на горечь и желательные характеристики вкуса экстракта хмеля.

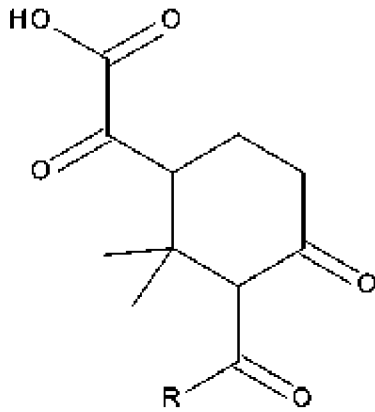
Авторы настоящего изобретения также установили, что во время освещения предварительно изомеризованного экстракта хмеля образуются значительные количества следующих полученных из хмеля соединений (включая все изомеры):



где  $R = -\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$  или  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ .

Эти соединения содержатся в обычных предварительно изомеризованных экстрактах хмеля не более, чем в следовых количествах. Однако в освещенных предварительно изомеризованных экстрактах хмеля, предлагаемых в настоящем изобретении, они содержатся в значительных концентрациях.

Одним объектом настоящего изобретения является светостойкий экстракт хмеля, содержащий не менее 1 г/кг сухого вещества одного или большего количества полученных из хмеля соединений, описываемых следующей формулой (I):



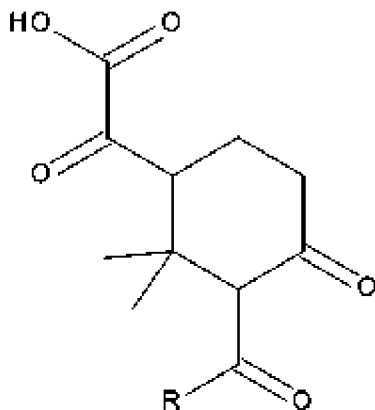
в которой  $R = -\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$  или  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ .

Другим объектом настоящего изобретения является способ получения светостойкого экстракта хмеля, указанный способ включает:

получение предварительно изомеризованного экстракта хмеля, содержащего не менее 10% изо-альфа-кислот в пересчете на массу сухого вещества, и

освещение предварительно изомеризованного экстракта хмеля, необязательно после разбавления предварительно изомеризованного экстракта хмеля.

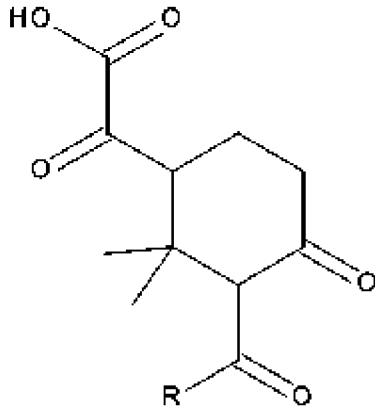
Настоящее изобретение также относится к пиву, содержащему светостойкий экстракт хмеля, указанное пиво содержит не менее 40 мкг/л рибофлавина и не менее 0,1 мг/л одного или большего количества полученных из хмеля соединений, описывающихся следующей формулой (I):



в которой  $R = -\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$  или  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ .

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Соответственно, первым объектом настоящего изобретения является светостойкий экстракт хмеля, содержащий не менее 1 г/кг сухого вещества одного или большего количества полученных из хмеля соединений, описываемых следующей формулой (I):



в которой  $R = -\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$  или  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ .

Термин "полученные из хмеля соединения" при использовании в настоящем изобретении если не указано иное, означает замещенные оксикиклогексилы, описываемые указанной выше формулой (I). Указанные выше полученные из хмеля соединения могут находиться в разных изомерных формах. Все эти изомерные формы, включая таутомеры и стереоизомерные формы, входят в приведенное выше определение "полученные из хмеля соединения".

Термин "изо-альфа-кислоты" при использовании в настоящем изобретении означает соединения, выбранные из группы, включающей изогумулон, изоадгумулон, изокогумулон, преизогумулон, постизогумулон и их комбинации. Термин "изо-альфа-кислоты" включает разные стереоизомеры (цис-изо-альфа-кислоты и транс-изо-альфа-кислоты).

Термин "альфа-кислоты" при использовании в настоящем изобретении означает соединения, выбранные из группы, включающей гумулон, адгумулон, когумулон, прегумулон, постгумулон и их комбинации.

Термин "бета-кислоты" при использовании в настоящем изобретении означает соединения, выбранные из группы, включающей лупулон, адлупулон, колупулон, прелупулон и постлупулон, и их комбинации.



Термин "полученное из изогумулона соединение" при использовании в настоящем изобретении означает полученные из хмеля соединения, определенные выше, в которых  $R = -CH_2CH(CH_3)_2$ .

Термин "полученное из изокогумулона соединение" при использовании в настоящем изобретении означает полученные из хмеля соединения, определенные выше, в которых  $R = -CH(CH_3)_2$ .

Термин "пиво" при использовании в настоящем изобретении включает алкогольное и безалкогольное пиво.

Концентрации полученных из хмеля соединений в экстракте хмеля или в пиве легко можно определить с помощью LC-MS (жидкостная хроматография-масс-спектрометрия) по методике, которая описана в этом документе.

Светостойкий экстракт хмеля, предлагаемый в настоящем изобретении, обычно содержит полученные из хмеля соединения в концентрации, равной не менее 3 г/кг сухого вещества, более предпочтительно в концентрации, равной не менее 6 г/кг сухого вещества и наиболее предпочтительно равной не менее 10 г/кг сухого вещества. Обычно экстракт хмеля содержит не более 350 г, предпочтительно не более 250 г полученных из хмеля соединений на 1 кг сухого вещества.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения светостойкий экстракт хмеля содержит значительные количества одного или большего количества полученных из хмеля соединений формулы (I), в которой  $R = -CH(CH_3)_2$ . Предполагается, что это полученное из хмеля соединение образовано из изокогумулона и в настоящем изобретении называется, как полученное из изокогумулона соединение. Обычно светостойкий экстракт хмеля содержит полученное из изокогумулона соединение в концентрации, равной не менее 0,3 г/кг сухого вещества, более предпочтительно в концентрации, равной не менее 1 г/кг сухого вещества и наиболее предпочтительно равной не менее 3 г/кг сухого вещества.

Как показано ниже, авторы настоящего изобретения идентифицировали два полученных из изокогумулона соединения в светостойком экстракте хмеля, предлагаемом в настоящем изобретении. Эти два полученных из изокогумулона соединения,

обозначаемые, как Co1 и Co2, более подробно описаны ниже. Обычно светостойкий экстракт хмеля содержит полученное из изокогумулоне соединение Co2 в концентрации, равной не менее 0,2 г/кг сухого вещества, более предпочтительно в концентрации, равной не менее 0,7 г/кг сухого вещества и наиболее предпочтительно равной не менее 2 г/кг сухого вещества.

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения светостойкий экстракт хмеля содержит значительные количества одного или большего количества полученных из хмеля соединений формулы (I), в которой  $R = -CH_2CH(CH_3)_2$ . Предполагается, что это полученное из хмеля соединение образовано из изогумулоне и в настоящем изобретении называется, как полученное из изогумулоне соединение. Обычно светостойкий экстракт хмеля содержит полученное из изогумулоне соединение в концентрации, равной не менее 0,5 г/кг сухого вещества, более предпочтительно в концентрации, равной не менее 2 г/кг сухого вещества и наиболее предпочтительно равной не менее 5 г/кг сухого вещества.

Светостойкий экстракт хмеля, предлагаемый в настоящем изобретении, обычно содержит не менее 1%, более предпочтительно не менее 2% и наиболее предпочтительно не менее 3% изо-альфа-кислот в пересчете на массу сухого вещества.

В особенно предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения светостойкий экстракт хмеля содержит полученные из хмеля соединения в концентрации, равной не менее 1%, более предпочтительно не менее 3%, еще более предпочтительно не менее 5%, еще более предпочтительно не менее 10% и наиболее предпочтительно не менее 20 мас.% в пересчете на массу изо-альфа-кислот, которые содержатся в экстракте.

Обычно светостойкий экстракт хмеля содержит не менее 0,3%, более предпочтительно не менее 3% и наиболее предпочтительно не менее 6% полученного из изокогумулоне соединения в пересчете на массу изо-альфа-кислот, которые содержатся в экстракте.

Светостойкий экстракт хмеля предпочтительно содержит не менее 0,5%, более предпочтительно не менее 5% и наиболее предпочтительно не менее 10% полученного из изогумулоне соединения в пересчете на массу изо-альфа-кислот, которые

содержатся в экстракте.

Альфа-кислоты обычно содержатся в светостойком экстракте хмеля в концентрации, равной 0-10%, более предпочтительно равной 0-3% и наиболее предпочтительно равной 0,01-2 мас.% в пересчете на сухое вещество.

Светостойкий экстракт хмеля, предлагаемый в настоящем изобретении, обычно содержит 0-10% бета-кислот в пересчете на массу сухого вещества, более предпочтительно 0-5% бета-кислот в пересчете на массу сухого вещества.

Содержание восстановленных изо-альфа-кислот (дигидроизо-альфа-кислот, тетрагидроизо-альфа-кислот и гексагидроизо-альфа-кислот) в светостойком экстракте хмеля предпочтительно не превышает 10 мас.% в пересчете на массу изо-альфа-кислот. Еще более предпочтительно, если содержание восстановленных изо-альфа-кислот не превышает 3 мас.% в пересчете на массу изо-альфа-кислот.

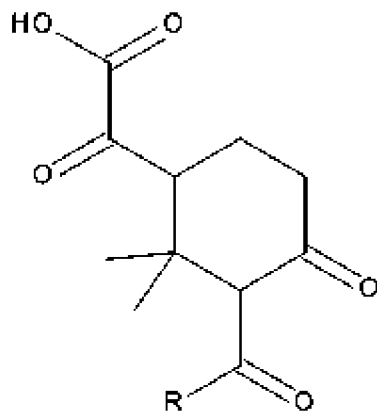
Светостойкий экстракт хмеля, предлагаемый в настоящем изобретении, обычно содержит не менее 20 мг/л полученных из хмеля соединений. Более предпочтительно, если светостойкий экстракт хмеля содержит не менее 80 мг/л полученных из хмеля соединений, наиболее предпочтительно не менее 150 мг/л указанных соединений.

Светостойкий экстракт хмеля предпочтительно представляет собой экстракт хмеля, который выделен из хмеля путем экстракции жидким или надкритическим диоксидом углерода.

Светостойкий экстракт хмеля, предлагаемый в настоящем изобретении, предпочтительно предварительно изомеризованный экстракт хмеля, более предпочтительно предварительно изомеризованный экстракт хмеля, содержит изо-альфа-кислоты и альфа-кислоты в массовом отношении, которое превышает 10:1, наиболее предпочтительно в массовом отношении, которое превышает 20:1.

Светостойкий экстракт хмеля предпочтительно обладает содержанием воды, составляющим не менее 30 мас.%, более предпочтительно содержанием воды, составляющим не менее 50 мас.% и наиболее предпочтительно составляющим не менее 70 мас.%.

Другим объектом настоящего изобретения является пиво, содержащее светостойкий экстракт хмеля, указанное пиво содержит не менее 40 мкг/л рибофлавина и не менее 0,1 мг/л одного или большего количества полученных из хмеля соединений, описываемых следующей формулой (I):



в которой R =  $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$  или  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ .

Как показано выше в настоящем изобретении, рибофлавин играет важную роль в индуцированном светом образовании 3-МВТ в пиве. Рибофлавин по природе содержится в пиве и подвергается очень быстрому фотолизу. Фактически в обычном пиве рибофлавин подвергается фотолизу намного быстрее, чем изо-альфа-кислоты. Таким образом, в пиве со световым привкусом содержание рибофлавина обычно уменьшается лишь до части исходного содержания, даже если до этого произошел фотолиз значительной части изо-альфа-кислот.

Светостойкое пиво, предлагаемое в настоящем изобретении, отличается от обычного пива тем, что оно содержит не менее 0,1 мг/л указанных выше одного или большего количества полученных из хмеля соединений. Это светостойкое пиво отличается от пива со световым привкусом тем, что оно одновременно содержит не менее 0,1 мг/л этих полученных из хмеля соединений и не менее 40 мкг/л рибофлавина.

Пиво, предлагаемое в настоящем изобретении, обычно содержит не менее 0,2 мг/л, более предпочтительно не менее 0,4 мг/л, и еще более предпочтительно не менее 1 мг/л одного или большего количества полученных из хмеля соединений. Обычно концентрация

одного или большего количества подвергнутых фотолизу хмелевых веществ в пиве не превышает 50 мг/л. Более предпочтительно, если указанная концентрация не превышает 40 мг/л, еще более предпочтительно, если она не превышает 30 мг/л и наиболее предпочтительно, если она не превышает 20 мг/л.

Светостойкое пиво предпочтительно содержит не менее 0,03 мг/л, более предпочтительно не менее 0,1 мг/л и наиболее предпочтительно не менее 0,3 мг/л полученного из изокогумулоне соединения.

Полученное из изокогумулоне соединение  $Co_2$  предпочтительно содержится в светостойком пиве в концентрации, равной не менее 0,02 мг/л, более предпочтительно не менее 0,07 мг/л и наиболее предпочтительно равной не менее 0,2 мг/л.

Светостойкое пиво предпочтительно содержит не менее 0,05 мг/л, более предпочтительно не менее 0,2 мг/л и наиболее предпочтительно не менее 0,5 мг/л полученного из изогумулоне соединения.

Содержание рибофлавина в светостойком пиве предпочтительно составляет не менее 60 мкг/л. Наиболее предпочтительно, если содержание рибофлавина находится в диапазоне от 80 до 2000 мкг/л.

В особенно предпочтительном варианте осуществления одно или большее количество полученных из хмеля соединений и рибофлавин содержатся в светостойком пиве в массовом отношении, которое не превышает 200:1, более предпочтительно в массовом отношении, которое находится в диапазоне от 1:1 до 100:1, и наиболее предпочтительно в диапазоне от 2:1 до 50:1.

Светостойкое пиво обычно содержит полученное из изокогумулоне соединение и рибофлавин в массовом отношении, которое не превышает 100:1, более предпочтительно в массовом отношении, составляющем от 1:2 до 50:1, наиболее предпочтительно от 1:1 до 40:1.

Светостойкое пиво обычно содержит полученное из изогумулоне соединение и рибофлавин в массовом отношении, которое не превышает 160:1, более предпочтительно в массовом отношении, составляющем от 1:1 до 80:1, наиболее предпочтительно от 2:1 до

60:1.

Светостойкое пиво, предлагаемое в настоящем изобретении, обычно содержит не менее 0,1 мг/л, более предпочтительно не менее 0,3 мг/л, еще более предпочтительно не менее 0,6 мг/л и наиболее предпочтительно не менее 1 мг/л изо-альфа-кислот. Обычно содержание изо-альфа-кислот в пиве не превышает 30 мг/л.

Одно или большее количество полученных из хмеля соединений предпочтительно содержатся в светостойком пиве в концентрации, равной не менее 1%, более предпочтительно равной не менее 3%, еще более предпочтительно не менее 5% и наиболее предпочтительно равной не менее 10 мас.% в пересчете на массу изо-альфа-кислот, которые также содержатся в пиве.

Светостойкое пиво, предлагаемое в настоящем изобретении, обычно содержит менее 100 нг/л 3-метил-2-бутен-1-тиола (3-МВТ). Еще более предпочтительно, если содержание 3-МВТ равно менее 50 нг/л, наиболее предпочтительно менее 30 нг/л. Концентрацию 3-МВТ легко можно определить по методике, описанной в публикации Hughes et al. (Hughes P. S., Burke S. and Meacham A. E. (1997) "Aspects of the lightstruck character of beer". Institute of Brewing, Proceedings of the 6th Central and South Africa Section, pp. 123-128).

Другим объектом настоящего изобретения является способ получения пива, определенный выше в настоящем изобретении, указанный способ включает введение светостойкого экстракта хмеля, определенного выше в настоящем изобретении.

Светостойкий экстракт хмеля предпочтительно добавляют к суслу или пиву до осветления, т. е. до удаления включенных твердых веществ и дрожжей из сброженного пива. Обычно осветление сброженного пива проводят путем фильтрования.

В указанном выше способе светостойкий экстракт хмеля предпочтительно вводят в сусло или пиво в концентрации, равной не менее 2 мг/л, более предпочтительно в концентрации, равной 5-200 мг/л, наиболее предпочтительно в концентрации, равной 10-150 мг/л.

После добавления светостойкого экстракта хмеля в сусло, сусло направляют на последующие стадии обработки, включающие:

сбраживание сусла с помощью пивоваренных дрожжей;  
осветление сброженного сусла; и  
упаковку.

Наконец, настоящее изобретение относится к способу получения светостойкого экстракта хмеля, указанный способ включает:

получение предварительно изомеризованного экстракта хмеля, содержащего не менее 10%, предпочтительно не менее 20% и наиболее предпочтительно не менее 40% изо-альфа-кислот в пересчете на массу сухого вещества,

освещение предварительно изомеризованного экстракта хмеля, необязательно после разбавления предварительно изомеризованного экстракта хмеля, с получением светостойкого экстракта хмеля, определенного выше в настоящем изобретении.

В особенно предпочтительном варианте осуществления предварительно изомеризованный экстракт хмеля освещают светом с максимальной интенсивностью при длине волны в диапазоне от 200–800 нм, более предпочтительно в диапазоне 250–600 нм, наиболее предпочтительно 300–500 нм.

Интенсивность освещения, используемая в способе, предлагаемом в настоящем изобретении, предпочтительно превышает 50 Вт/м<sup>2</sup>. Более предпочтительно, если указанная интенсивность освещения превышает 100 Вт/м<sup>2</sup>, наиболее предпочтительно, если она превышает 200 Вт/м<sup>2</sup>.

Предварительно изомеризованный экстракт хмеля обычно освещают при указанной выше интенсивности освещения в течение не менее 30 мин, более предпочтительно в течение не менее 1 ч и наиболее предпочтительно в течение 2–48 ч.

Во время освещения температура экстракта хмеля обычно остается в диапазоне 0–100°C, более предпочтительно 15–80°C.

Авторы настоящего изобретения установили, что особенно хорошие результаты можно получить, если предварительно изомеризованный экстракт хмеля освещают после разбавления водой. Соответственно, в особенно предпочтительном варианте осуществления способ, предлагаемый в настоящем изобретении,

включает стадии:

разбавление предварительно изомеризованного экстракта водой с получением водного раствора; и

освещение водного раствора предварительно изомеризованного экстракта хмеля.

Разбавленный водный раствор предварительно изомеризованного экстракта хмеля, когда начинается освещение обычно обладает содержанием изо-альфа-кислоты в диапазоне от 0,2-200 г/л, более предпочтительно 0,5-70 г/л и наиболее предпочтительно 1-25 г/л.

Разбавленный водный раствор предварительно изомеризованного экстракта хмеля обычно содержит не менее 80 мас.% воды. Еще более предпочтительно, если указанный разбавленный водный раствор содержит не менее 90 мас.% воды. Наиболее предпочтительно, не менее 95 мас.% воды.

Настоящее изобретение дополнительно иллюстрируется следующими неограничивающими примерами.

#### ПРИМЕРЫ

Методика определения концентраций полученных из хмеля соединений

Концентрации 4 разных полученных из хмеля соединений, описываемых формулой (I) можно определить с помощью UPLC-MS (сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография-масс-спектрометрия) по методике, описанной ниже. Эти 4 полученных из хмеля соединения включали два полученных из изокогумулона соединения (обозначаемые, как Co1 и Co2) и два полученных из изогумулона соединения (обозначаемые, как N1 и N2). Типичные времена удерживания этих соединений, полученные по методике UPLC-MS, описанной ниже приведены ниже.

Соединение	Время удерживания (мин)
Co1	6,87
Co2	7,99
N1	9,08
N2	9,99

Масс-спектры этих полученных из хмеля соединений приведены на фиг. 1-4.



Концентрацию каждого полученного из хмеля соединения определяют с помощью калибровочных графиков для каждого из полученных из хмеля соединений. Эти полученные из хмеля соединения можно выделить в очень чистом виде из освещенного предварительно изомеризованного экстракта хмеля с помощью препаративной UPLC.

Калибровочные графики для полученных из хмеля соединений получали при параметрах детектора, описанными ниже.

Оборудование, материалы и условия, описанные ниже, можно использовать для определения концентраций указанных выше полученных из хмеля соединений.

Оборудование:

Система UPLC: Acquity UPLC (Waters), снабженная колонкой ВЕН C18 (1,7 мкм, 2,1 мм×150 мм; Waters product number: 186002353)

Детектор: Масс-спектрометр XEVO TQ-S (Waters)

Химикаты:

Milli-Q® Вода сверхвысокой чистоты

Ацетонитрил ≥ 99,9% (JT-Baker: 9853-02)

Муравьиная кислота ≥ 98% (Sigma-Aldrich product number: 33015)

Параметры прибора UPLC:

Температура колонки: 60°C

Инжектируемый объем: 1 мкл

Температура образца: 10°C

Продолжительность эксперимента: 25 мин

Элюент А=1000 мл воды сверхвысокой чистоты+1 мл муравьиной кислоты

Элюент В=1000 мл ацетонитрила+1 мл муравьиной кислоты

Градиентный режим:

Время (мин)	Скорость потока (мл/мин)	%А	%В
0,0	0,25	95	5
10	0,25	59	41

11	0,25	95	5
25	0,25	95	5

Параметры детектора:

Анализ проводят при сканировании в режимах отрицательных ионов (ES-) и мониторинга нескольких реакций (MRM).

Параметры масс-спектрометра:

Полярность	ES-
Напряжение на капилляре (кВ)	2,5
Температура источника (°C)	150
Температура десольватации (°C)	600
Скорость потока газа на конусе (л/ч)	150
Скорость потока газа при десольватации (л/ч)	1000
Скорость потока столкновительного газа (мл/мин)	0,22

Режимы мониторинга нескольких реакций (MRM):

	Исходный ион (m/z)	Дочерний ион (m/z)	Энергия при столкновении (эВ)
Co1 и Co2	267	195	20
N1 и N2	281	209	20

Перед анализом образцы дегазируют.

Методика определения концентрации рибофлавина

Концентрацию рибофлавина в пиве можно определить с помощью UPLC-FLR, используя оборудования, материалы и условия, описанных ниже.

Оборудование:

Система UPLC: Acquity UPLC (Waters), снабженная колонкой ВЕН C18 (1,7 мкм, 2,1 мм×150 мм; Waters product number: 186002353)

Детектор: Acquity Fluorescence (FLR) detector (Waters)

Химикаты:

Milli-Q® Вода сверхвысокой чистоты

Ацетонитрил ≥ 99,9% (Sigma Aldrich product number: 34998)

Фосфорная кислота ≥85,0% (Sigma Aldrich product number: 30417)

Рибофлавин (Sigma Aldrich product number: R-7649)

Моногидрат дигидрофосфата натрия (Merck product number: 106346)

Буфер с pH 2,7 (7,5 г моногидрата дигидрофосфата натрия в 200 мл воды сверхвысокой чистоты+1 мл фосфорной кислоты в 1000 мл воды сверхвысокой чистоты)

Параметры прибора UPLC:

Температура колонки: 40°C

Инжектируемый объем: 10 мкл

Температура образца: 10°C

Продолжительность эксперимента: 15 мин

Элюент А=буфер при pH 2,7

Элюент В=ацетонитрил

Градиентный режим:

Время (мин)	Скорость потока (мл/мин)	%А	%В
0,00	0,20	95	5
10,0	0,20	95	5
10,5	0,20	15	85
12,0	0,20	15	85
12,2	0,20	95	5
15,0	0,20	95	5

Параметры детектора:

$\lambda_{ex}$ =444 нм

$\lambda_{em}$  =525 нм

Перед анализом образцы дегазируют.

Пример 1

В качестве исходного вещества использовали предварительно изомеризованный экстракт хмеля (так называемый "Isohop", полученный у фирмы Barth-Haas Group). Этот экстракт хмеля обладает следующими характеристиками (по данным Паспорта описания продукта фирмы Barth-Haas Group):

содержит  $30 \pm 0,5$  мас.% изо-альфа-кислот

содержит < 0,7% альфа-кислот

содержит < 0,3% бета-кислот

Предварительно изомеризованный экстракт хмеля разбавляли водой сверхвысокой чистоты "Milli-Q® Ultrapure Water" (1:50

мас./мас.). 16 мл Разбавленного экстракта хмеля помещали в стеклянную пробирку с винтовой крышкой (стекло Duran, диаметр пробирки равен 16 мм, длина пробирки равна 160 мм). 30 Этих стеклянных пробирок одновременно освещали ксеноновой лампой в течение 32 ч в системе Suntest XLS+ устройство (ATLAS). Во время освещения использовали следующие условия:

Мощность ксеноновой лампы равна 1700 Вт

Пробирки располагали горизонтально в системе Suntest XLS+ устройство

Расстояние от стеклянных пробирок до лампы равно 25 см

Освещенность на уровне образца устанавливали равной 765 Вт/м<sup>2</sup>

Температура разбавленного экстракта хмеля увеличивалась от температуры окружающей среды примерно до 50°C (во время освещения специальное охлаждение и нагревание не проводили)

До и после освещения определяли концентрации изо-альфа-кислот и полученных из хмеля соединений в экстракте хмеля. Определение изо-альфа-кислот в экстракте хмеля проводили по методике, описанной в публикации European Brewery Convention (EBC) in 2005: "Method 7.8: Iso-alpha-, alpha- and beta-acids in hops, hop powder products and hop extracts (HPLC method)". Определение концентраций полученных из хмеля соединений в экстракте проводили по методике, описанной выше. Результаты этих анализов приведены в таблице 2:

Таблица 2

	Изо-альфа-кислоты (мг/л)	Полученные из хмеля соединения				
		Co1 (мг/л) )	Co2 (мг/л) )	N1 (мг/л) )	N2 (мг/л) )	Сумма (мг/л) )
Экстракт хмеля	5808	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Светостойкий экстракт хмеля	339	65	264	174	372	875

Пример 2

Освещенные и неосвещенные экстракты хмеля примера 1 добавляли к безхмелевому пиву (300 мл безхмелевого пива в стеклянной бутылке). Первое пиво (эталонное пиво) готовили путем добавления 20 мг/л неосвещенного экстракта хмеля. Второе пиво (светостойкое пиво) готовили путем добавления 60 мг/л освещенного экстракта хмеля. Освещенный экстракт хмеля использовали в более высокой концентрации для компенсации уменьшения интенсивности горечи, происходившего в результате освещения. Вкусовой профиль пива, содержащего освещенный экстракт хмеля, очень сходен с вкусовым профилем пива, содержащего неосвещенный экстракт хмеля.

Оба пива освещали искусственным солнечным светом, помещая бутылки горизонтально в системе XLS+ устройство, и их освещали в течение 24 ч. Во время освещения, использовали такие же условия, как в примере 1.

До и после освещения искусственным солнечным светом в обоих типах пива определяли концентрации следующих соединений:

полученных из хмеля соединений формулы (I),  
 изо-альфа-кислот,  
 рибофлавина и  
 3-MBT.

Определение изо-альфа-кислот в пиве проводили по методике, описанной в публикации American Society of Brewing Chemists (ASBC) in 2009 (Methods of Analysis, 14th Edition): "Method Beer 23 (section E: Iso-alpha acids in beer by HPLC)". Содержание 3-MBT определяли по методике, описанной в публикации Hughes et al. ("Aspects of the lightstruck character of beer". Institute of Brewing, Proceedings of the 6<sup>th</sup> Central and South Africa Section (1997), pp. 123-128). Определение концентраций полученных из хмеля соединений и рибофлавина в пиве проводили по методикам, описанным выше.

Результаты этих анализов приведены в таблице 3:

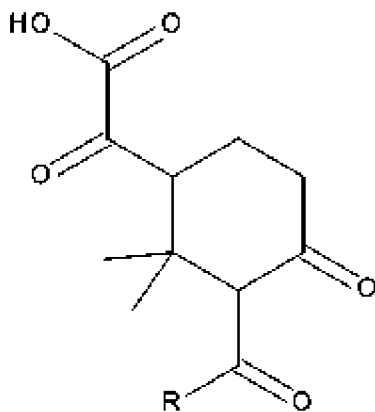
Таблица 3

	Изо- альфа- кислоты	Полученные из хмеля соединения	Рибофл авин	МВТ
--	---------------------------	--------------------------------	----------------	-----

	(мг/л)	Co1 (мг/л )	Co2 (мг/л )	N1 (мг/л )	N2 (мг/л )	Сумма (мг/л )	(мкг/л )	(нг/л )
Эталонное пиво								
0 ч освещения	19,2	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	318	7
2 ч освещения	18,8	0,01	0,02	0,03	0,04	0,11	16	309
6 ч освещения	17,8	0,05	0,08	0,11	0,15	0,39	2,8	660
24 ч освещения	16,0	0,19	0,28	0,42	0,54	1,42	0,3	2072
Светостойкое пиво								
0 ч освещения	4,5	0,53	2,32	1,65	3,54	8,04	313	8
2 ч освещения	4,4	0,56	2,29	1,66	3,45	7,95	15	74
6 ч освещения	4,2	0,61	2,20	1,77	3,29	7,87	2,0	137
24 ч освещения	3,6	0,86	2,19	2,18	3,18	8,41	0,4	506

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Пиво, содержащее светостойкий экстракт хмеля, причем указанное пиво содержит не менее 40 мкг/л рибофлавина и не менее 0,1 мг/л одного или более полученных из хмеля соединений, описываемых формулой (I):



в которой  $R = -\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$  или  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ .

2. Пиво по п. 1, содержащее не менее 0,2 мг/л, предпочтительно не менее 0,4 мг/л, более предпочтительно не менее 1 мг/л одного или более полученных из хмеля соединений.

3. Пиво по п. 1 или 2, содержащее не более 50 мг/л, предпочтительно не более 40 мг/л, более предпочтительно не более 30 мг/л одного или более полученных из хмеля соединений.

4. Пиво по любому из предыдущих пунктов, содержащее не менее 60 мкг/л, предпочтительно 80–2000 мкг/л рибофлавина.

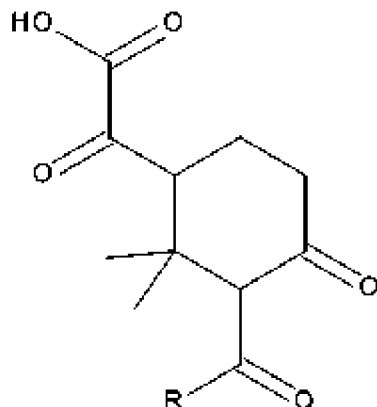
5. Пиво по любому из предыдущих пунктов, в котором одно или более полученных из хмеля соединений и рибофлавин содержатся в массовом отношении, которое не превышает 200:1, предпочтительно в массовом отношении, которое находится в диапазоне от 1:1 до 100:1.

6. Пиво по любому из предыдущих пунктов, в котором пиво содержит не менее 0,1 мг/л, предпочтительно не менее 0,3 мг/л, более предпочтительно не менее 0,6 мг/л изо-альфа-кислот.

7. Пиво по п. 6, в котором пиво содержит не менее 1%, более предпочтительно не менее 3% и наиболее предпочтительно не менее 5 мас.% изо-альфа-кислот из полученных из хмеля соединений.

8. Светостойкий экстракт хмеля, содержащий не менее 1 г/кг

сухого вещества одного или более полученных из хмеля соединений, описываемых следующей формулой (I):



в которой  $R = -\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$  или  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ .

9. Экстракт хмеля по п. 8, содержащий одно или более полученных из хмеля соединений в концентрации, равной не менее 3 г/кг сухого вещества, предпочтительно в концентрации, равной не менее 6 г/кг сухого вещества и более предпочтительно равной не менее 10 г/кг сухого вещества.

10. Экстракт хмеля по п. 8 или 9, содержащий не менее 1%, более предпочтительно не менее 3% и наиболее предпочтительно не менее 5 мас.% изо-альфа-кислот в качестве одного или более полученных из хмеля соединений.

11. Экстракт хмеля по любому из пп. 8-10, содержащий не менее 1% изо-альфа-кислот в пересчете на массу сухого вещества.

12. Экстракт хмеля по любому из пп. 8-11, содержащий альфа-кислоты в концентрации, равной 0-10 мас.% в пересчете на сухое вещество, предпочтительно равной 0-3 мас.% в пересчете на сухое вещество и более предпочтительно равной 0,01-2 мас.% в пересчете на сухое вещество.

13. Экстракт хмеля по любому из пп. 8-12, содержащий бета-кислоты в концентрации, равной 0-10 мас.% в пересчете на сухое вещество, предпочтительно равной 0-5 мас.% в пересчете на сухое вещество.

14. Экстракт хмеля по любому из пп. 8-13, содержащий восстановленные изо-альфа-кислоты в концентрации, которая не превышает 10 мас.% в пересчете на массу изо-альфа-кислот,

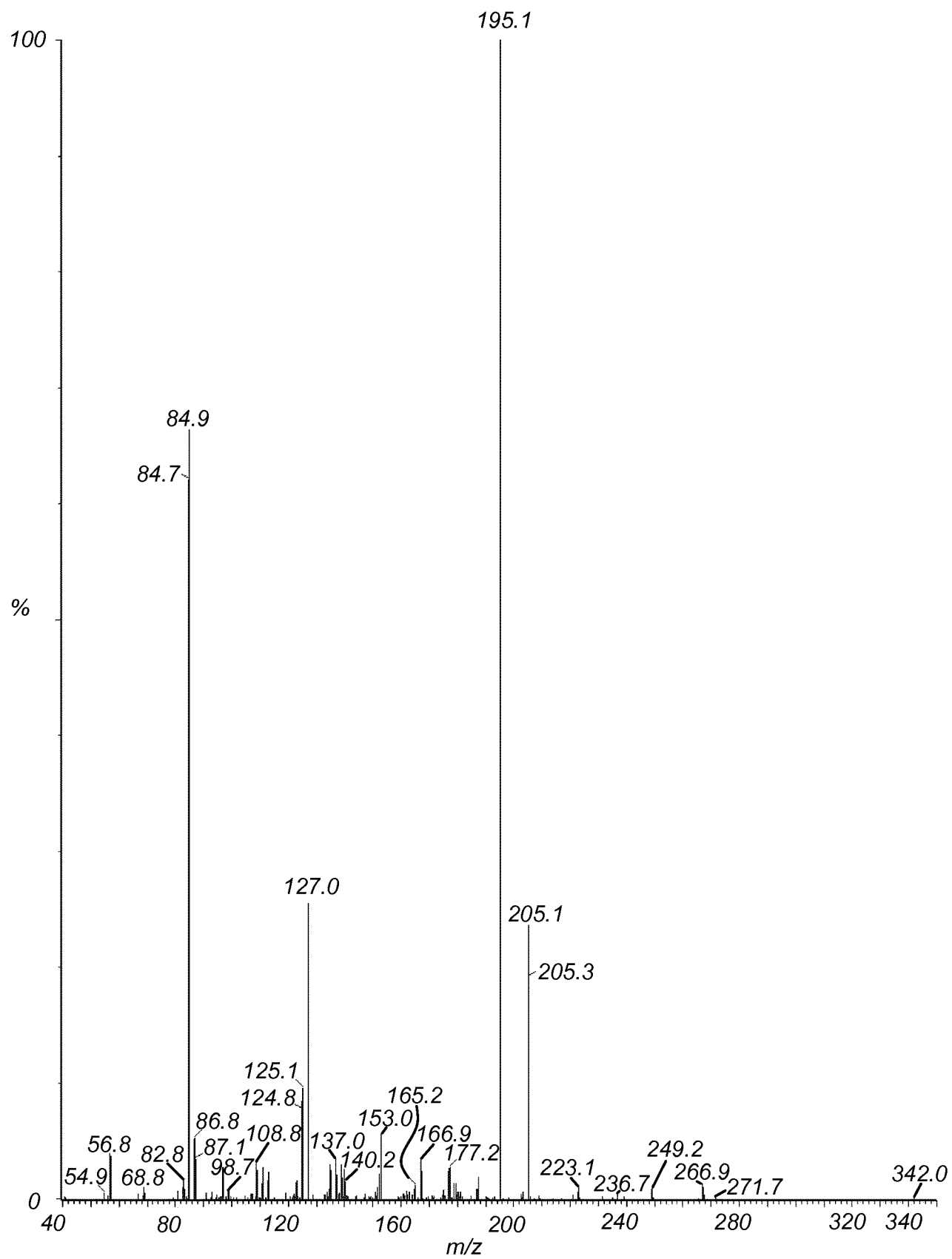


предпочтительно не превышает 3 мас.‰ в пересчете на массу изо-альфа-кислот; указанные восстановленные изо-альфа-кислоты выбраны из группы, включающей дигидроизо-альфа-кислоты, тетрагидроизо-альфа-кислоты, гексагидроизо-альфа-кислоты и их комбинации.

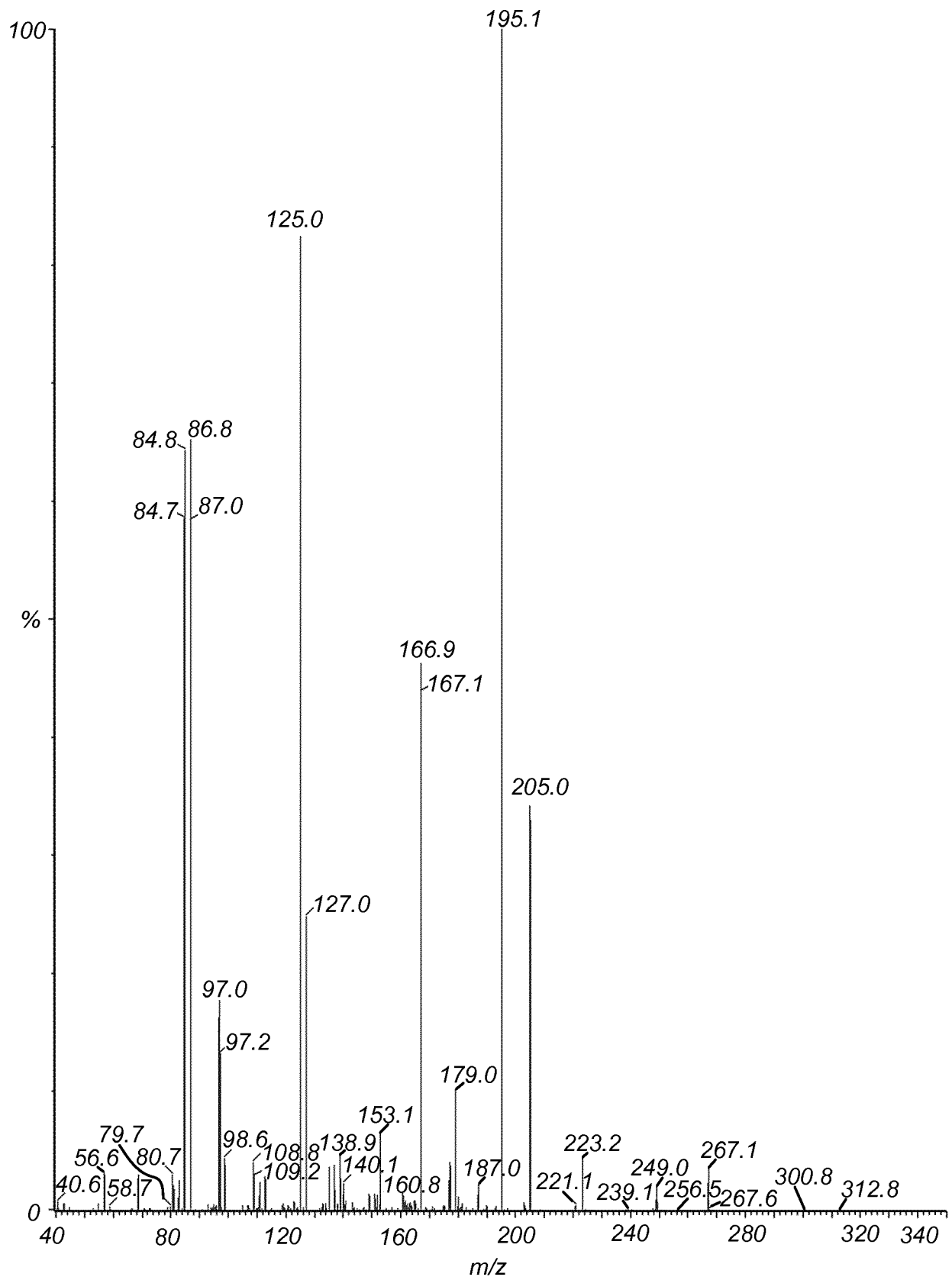
15. Способ получения пива, включающий введение экстракта хмеля по любому из пп. 8-14.

По доверенности

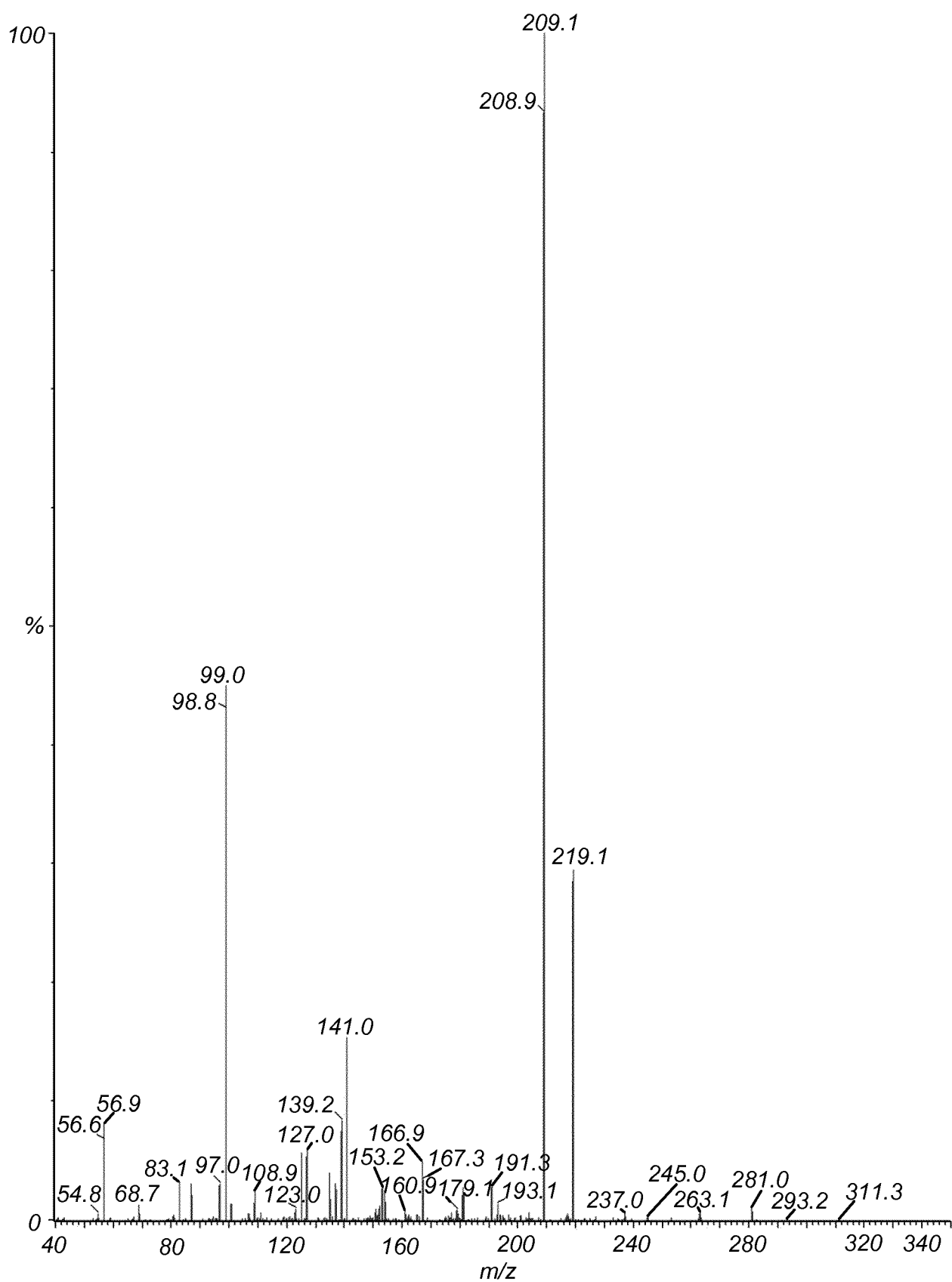
ФИГ. 1



ФИГ. 2



ФИГ. 3



ФИГ. 4

