

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl. ⁶ C12C 1/18	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2005년11월02일 10-0525860 2005년10월26일
-------------------------------------------	-------------------------------------	------------------------------------------

(21) 출원번호	10-1999-7000544	(65) 공개번호	10-2000-0067999
(22) 출원일자	1999년01월23일	(43) 공개일자	2000년11월25일
번역문 제출일자	1999년01월23일		
(86) 국제출원번호	PCT/BE1997/000086	(87) 국제공개번호	WO 1998/03627
국제출원일자	1997년07월23일	국제공개일자	1998년01월29일

(81) 지정국

국내특허 : 알바니아, 오스트레일리아, 보스니아 헤르체고비나, 바르바도스, 불가리아, 브라질, 캐나다, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 에스토니아, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 북한, 대한민국, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 리투아니아, 라트비아, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 폴란드, 루마니아, 싱가포르, 슬로베니아, 슬로바키아, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 미국, 우즈베키스탄, 베트남,

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기스스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 핀란드, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고,

(30) 우선권주장 PCT/BE96/00077 1996년07월23일 세계지적재산권기구(WIPO)(WO)

(73) 특허권자 까르질 프랑스 엔.브이.
 벨기에, 베-3020 헤렌트 지프스트라트 155

(72) 발명자 코펜, 테오
 벨기에, 베-3120트레모로, 뉴베스트라트37

 델코르, 안
 벨기에, 베-3001헤베르리, 카스탄제란14

 이제렌탄트, 더크
 벨기에, 베-3018위그말, 모렌스트라트40

(74) 대리인 강명구
 강석용

심사관 : 최준영

(54) 맥아 곡류를 만드는 공정

요약

맥아된 곡류를 준비하는 공정은 곡류를 액체에 담그는 단계는 5℃ 내지 30℃ 범위, 바람직하게는 10 내지 20℃에서 하나 이상의 습윤제를 포함하여, 재료는 수분함량이 20 내지 60wt, 바람직하게는 38 내지 47wt를 가지고, 2 내지 7일간의 발아 기간 후에, 바람직하게는 10 내지 30℃, 바람직하게는 14 내지 18℃에서 3 내지 6일 후에, 온도를 40 내지 150℃, 바람직하게는 45 내지 85℃로 온도를 증가시켜 재료의 수분함량이 2 내지 15wt, 바람직하게는 4 내지 7wt가 될 때까지 젖은 발아된 곡류를 건조시키는데, 이때 곡류의 맥아 공정전후 또는 공정동안에 1회 이상 박테리아, 곰팡이등에서 선택된 하나 이상의 미생물 배양물을 첨가하고, 미생물 배양물은 활성화된 포자로 접종을 하는데, 활성화된 포자는 발육 중지된 상태 크기에 비해 상당히 팽창된 것으로 포자의 크기는 발육 중지된 상태의 크기에 비해 1.2 내지 10배 이상 증가되었고, 포자 한 개당 하나이상의 발아관을 가지는 것을 특징으로 한다.

대표도

도 1

명세서

기술분야

본 발명은 맥아 곡류를 만드는 개선된 공정, 이 공정에 의해 수득된 개선된 맥아 곡류 및 이의 용도에 관계하고, 특히 음료 또는 음식물/사료 등의 생명공학기술분야, 세탁물 및 계면활성제 시스템, 종이 및 펄프 등의 표백 기술 등에 이용하는 것을 특징으로 한다.

배경기술

보리, 밀, 호밀, 옥수수, 귀리, 쌀, 기장, 라이밀 및 사탕수수와 같은 곡류는 음료를 만드는데 이용된다. 대부분의 경우에 이들 곡류는 맥아공정을 거쳐서 효소활성을 증가시키게 된다.

통상적인 맥아공정에서는 침수 또는 분무 등의 방법으로 곡류의 수분 함량을 증가시켜, 수분 함량이 증가된 곡류가 생성된다. 적절한 생리학적 조건에 도달한 후에는 건조 단계를 거치게 된다. 다음에서 액체에 "담근다"는 의미는 수분 수준을 증가시킨다는 것을 의미하고, 발아의 의미는 식물 생리학에서 이용되는 것과 같다. 건조 작업은 카닐링(kilning)을 의미하고, 맥아 과정은 보리(또는 다른 곡류)를 보리 맥아(또는 다른 곡류의 경우)로 전환시키는데 필요한 모든 공정을 말한다.

맥아 공정동안 발생하는 식물 내생 효소에 의해 대부분의 경우에 수득된 맥아의 질을 결정할 수 있다. 맥아 생산을 위해 재료 물질로써 이용되는 보리와 같은 곡물의 경우에, 세균총 조성물, 농사 등의 환경 인자에 의해 맥아 질이 영향을 받는다. 재배 및 저장을 하는 동안에, 곡류는 세균 및 곰팡이에 의해 감염된다. 맥아제조 식물에서, 공기나 물로 장비를 멸균을 하지 않으면, 습도, pH, 온도 등이 미생물집단의 성장에 도움이 된다.

맥아 공정동안에 다양한 곡류 품질 및 결핍을 보충하는 수단이 부족한 경우에 맥아의 질이 다양하게 된다. 대부분 경우에, 특정 효소가 불균형을 이루고, 세포벽이 불충분하게 분해된다. 이와는 별도로, 미생물 안정성에 대한 문제가 발생된다. 맥아에 결함이 있기 때문에, 맥아 즙의 불충분한 여과 등과 같은 맥주를 생산하는데 품질 문제가 발생된다.

기술 상태

보리를 맥아 제조하는 과정에서, 세균총이 발생하여, 내생 미생물의 활성화에 의해 맥아 및 음료의 질이 영향을 받게 된다.

다른 생명과학 과정과 유사하게, 맥아제조 공정동안에 시작 배양물을 첨가하여 맥아 품질을 최적화하는 시도가 있었다 (Boivin, P. & Malanda, M., Influence of Starter Cultures in Malting on the Microflora Development and Malt Quality, EBC, Proceedings of the 24th Congress, pp. 95-102 (1993); Haikara, A. et al., Lactic Starter Cultures in Malting - A. Novel Solution to Gushing Problems, EBC, Proceedings of the 24th Congress, pp. 163-172 (1993)).

씨를 담그는 액체에 지오텐리쿰 칸디둠(*Geotrichum candidum*) 포자를 첨가하면, 원하지 않는 미생물 발생을 막을 수 있고, 수득된 맥아로 만든 맥아즙의 여과 시간을 줄일 수 있다. 지오텐리쿰 칸디둠(*Geotrichum candidum*)으로 처리를 할 경우에 푸자륨 아속(*Fusarium spp*)에 의한 진균 독소가 형성되는 것을 방해한다.

맥아 제조공정동안에 세균층에 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) 및 페디오코커스 펜토사세우스(*Pediococcus pentosaceus*)의 영향에 대해 조사를 하였고, 이들은 천연 방부제로써 역할을 하여 푸자륨의 성장을 제한하는 것으로 밝혀졌다.

국제출원 WO94/29430에서는 맥아된 곡류의 성질을 개선시키는 공정에 대해서 설명을 하고 있는데, 이때 곰팡이, 효모 또는 박테리아로 구성된 시작 배양물을 곡류의 맥아생성 공정전에 또는 공정동안에 첨가하는 것이다.

이용된 바람직한 박테리아는 유산을 생산하는 다양한 락토바실러스(*Lactobacilli*) 예를 들면 락토바실러스 카제이(*Lactobacillus casei*), 락토바실러스 카제이 바르 라모수스(*Lactobacillus casei var rhamnosus*), 락토바실러스 퍼멘툼(*Lactobacillus fermentum*), 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*), 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*) 및 페디오코커스 속 가령 페디오코커스 아시디락티(*Pediococcus acidilactici*)등 이다.

바람직한 곰팡이는 아스퍼질러스(*Aspergillus*) 및 지오텐리쿰 칸디둠(*Geotrichum candidum*)과 같은 지오텐리쿰 속이다.

국제 특허 출원 WO94/16053에서는 원하지 않는 미생물 종의 성장을 방해하도록 곡류를 처리하는 공정에 대해 설명을 하고 있는데, 이는 발아공정동안에 곡류를 유산 박테리아 준비물 또는 유산 박테리아에 의해 생산되는 준비물로 접종하는 것으로 구성된다. 적절한 박테리아는 락토코커스(*Lactococcus*), 뉴코노스톡(*Leuconostoc*), 페디오코커스(*Pediococcus*) 또는 락토바실러스(*Lactobacillus*)속에 속하는 유산 박테리아이다.

European Brewery Convention, volume 16, 1977, pages 245 to 254 회보에서는 맥아 산업에 일부 곰팡이의 영향에 대해 설명을 하고 있는데, 좀더 구체적으로는 보리 맥아가 곰팡이에 오염된 경우에 맥주에서 분출 및 다른 정량적인 변화를 초래한다.

독일 특허 출원 DE-3028360에서는 옥수수로 만드는 방법에 대해 설명을 하고 있다.

그러나, 본 발명에 따라 만든 맥아는 기존의 문헌들에 의해 만들어진 것들보다 품질이 우수하다. 그 예로는 β-글루카나제 및 실라나제 활성이 더 높고, 맥아 및 맥아즙에는 β-글루칸 함량이 낮고, European Brewery Convention 분석 데이터가 개선되었다.

발명의 목표

본 발명은 맥아된 곡류 및 개선된 맥아된 곡류를 위한 준비 공정을 제공한다.

본 발명의 목표는 양조 능력면에서, 특히 효소능 및 미생물 안전측면에서 품질이 개선된 맥아 곡류 및 개선된 맥아된 곡류를 만들기 위한 공정을 제공한다.

또 다른 목표는 사용된 천연 재료를 이용하여 품질에 차이가 거의 없는 개선된 맥아 곡류 및 그 공정을 제공한다.

본 발명의 또 다른 목표는 음료의 생명 과학적인 생산 공정을 개선시킨 맥아된 곡류를 수득하고, 수득된 음료의 성질을 개선시키는 것이다.

본 발명의 또 다른 목표는 제빵 산업에서 빵 첨가물과 같은 식품 기술, 고효율 동물 사료의 생산을 위한 사료 기술, 표백제와 같은 종이 및 펄프 기술 또는 효소를 이용하는 세제로써 세탁액, 세탁 분말, 식기-세척 액체 및 분말, 연화제, 계정제, 비누 등과 같은 세탁 및 계면활성제 등의 산업 기술에서 개선된 성질을 가지는 맥아된 곡류를 이용하는 것이다.

발명의 요약

본 발명은 맥아된 곡류를 준비하는 공정에 특히 관계하는데, 곡류를 액체에 담그는 단계는 5°C 내지 30°C 범위, 바람직하게는 10 내지 20°C에서 하나이상의 습윤제를 포함하여, 재료는 수분함량이 20 내지 60wt, 바람직하게는 38 내지 47wt를 가지고, 2 내지 7일간의 발아기간 후에, 바람직하게는 10 내지 30°C, 바람직하게는 14 내지 18°C에서 3 내지 6일 후에, 온도를 40 내지 150°C, 바람직하게는 45 내지 85°C로 온도를 증가시켜 재료의 수분함량이 2 내지 15wt, 바람직하게는 4 내지 7wt가 될 때까지 젖은 발아된 곡류를 건조시키는데, 이때 곡류의 맥아 공정전후 또는 공정동안에 1회 이상 박테리아, 곰팡이등에서 선택된 하나이상의 미생물 배양물을 첨가하고, 미생물 배양물은 활성화된 포자로 접종을 하는데, 활성화된 포자는 발육 중지된 상태 크기에 비해 상당히 팽창된 것으로 포자의 크기는 발육 중지된 상태의 크기에 비해 1.2 내지 10 배 이상 증가되었고, 포자 한 개당 하나이상의 발아관을 가진다.

본 발명에서 이용된 "곰팡이"는 진균 및 효모를 포함하는 것이다.

따라서, 본 공정은 맥아 조건에서 광범위한 탄력성을 가진다.

바람직하게는 보리 맥아를 만들기 위해, 마이크로코커스 종(*Micrococcus spp.*), 스트렙토코커스 종(*Streptococcus spp.*), 루코노스톡(*Leuconostoc spp.*), 페디오코커스 종(*Pediococcus spp.*)으로 구성된 집단에서 박테리아를 선택하는데, 바람직하게는 페디오코커스 할로필리스(*Pediococcus halophilus*), 페디오코커스 세르비시에(*Pediococcus cerevisiae*), 페디오코커스 담노수스(*Pediococcus damnosus*), 페디오코커스 헤모필리스(*Pediococcus hemophilus*), 페디오코커스 파르볼루스(*Pediococcus parvulus*), 페디오코커스 소이에(*Pediococcus soyae*); 락토코커스 종(*Lactococcus spp.*), 락토바실러스 종(*Lactobacillus spp.*) 바람직하게는, 락토바실러스 악시도필리스(*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 아밀로보루스(*Lactobacillus amylovorus*), 락토바실러스 바바리쿠스(*Lactobacillus bavaricus*), 락토바실러스 비페르멘탄스(*Lactobacillus bifementans*), 락토바실러스 브레비스 바르 린드레니(*Lactobacillus brevis var lindneri*), 락토바실러스 카제이 바르 카제이(*Lactobacillus casei var casei*), 락토바실러스 델부렉키(*Lactobacillus delbrueckii*), 락토바실러스 델부렉키 바르 락티스(*Lactobacillus delbrueckii var lactis*), 락토바실러스 델부렉키 바르 불가리쿠스(*Lactobacillus delbrueckii var bulgaricus*), 락토바실러스 퍼멘티(*Lactobacillus fermenti*), 락토바실러스 가제리(*Lactobacillus gasserii*), 락토바실러스 헬베티쿠스(*Lactobacillus helveticus*), 락토바실러스 힐가르디(*Lactobacillus hilgardii*), 락토바실러스 렌테리(*Lactobacillus reuterii*), 락토바실러스 사케(*Lactobacillus sake*), 락토바실러스 사티보이루스(*Lactobacillus sativorius*), 락토바실러스 케피르(*Lactobacillus kefir*), 락토바실러스 세레모리스(*Lactobacillus cremoris*), 락토바실러스 펜토세티쿠스(*Lactobacillus pentoceticus*), 락토바실러스 셀로비오수스(*Lactobacillus cellobiosus*), 락토바실러스 브룩셀렌시스(*Lactobacillus bruxellensis*), 락토바실러스 부체네리(*Lactobacillus buchnerii*), 락토바실러스 코리네포르미스(*Lactobacillus coryneformis*), 락토바실러스 콘푸수스(*Lactobacillus confusus*), 락토바실러스 플렌티누스(*Lactobacillus florentinus*), 락토바실러스 비리데센스(*Lactobacillus viridescens*), 코리네박테리움 종(*Corynebacterium spp.*), 프로피오니박테리움 종(*Propionibacterium spp.*), 비피도박테리움 종(*Bifidobacterium spp.*), 스트렙토마이세스 종(*Streptomyces spp.*), 바실러스 종(*Bacillus spp.*), 스포로락토바실러스(*Sporolactobacillus spp.*), 아세토박터 종(*Acetobacter spp.*), 아그로박테리움 종(*Agrobacterium spp.*), 알칼리젠스 종(*Alcaligenes spp.*), 슈도모나스 종(*Pseudomonas spp.*), 바람직하게는 슈도모나스 아밀로필리아(*Pseudomonas amylophilia*), 슈도모나스 에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 슈도모나스 코코베난스(*Pseudomonas cocovenenans*), 슈도모나스 멕시코나(*Pseudomonas mexicana*), 슈도모나스 슈도말레이(*Pseudomonas pseudomallei*), 글루코노박터 종(*Gluconobacter spp.*), 엔테로박터 종(*Enterobacter spp.*), 에르위니아 종(*Erwinia spp.*), 클렙스엘라 종(*Klebsiella spp.*), 프로테우스 종(*Proteus spp.*)이 된다.

바람직하게는, 맥아 곡류를 준비하기 위해서, 곰팡이는 Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi, 8th edition, 1995, edited by DL Hawksworth, PM Kirk, BC Sutton, and Debit-note Pegler (632 pp) Cab International)에서 설명을 하고 있는 속(屬)에서 선택되는데, 아스코미코타(자낭균 *Ascomycota*) 바람직하게는 도티오덜스(Dothideales) 바람직하게는 미코스페르라시에(*Mycosphaerellaceae*) 바람직하게는 미코스페렐라 종(*Mycosphaerella spp.*), 벤투리아세아(*Venturiaceae*) 바람직하게는 벤투리아 종(*Venturia spp.*); 유로티아레(*Eurotiales*), 바람직하게는 모나스카제이(*Monascaceae*) 바람직하게는 모나스쿠스종(*Monascus spp.*), 트리쇼코마세(*Trichocomaceae*) 바람직하게는 에메리실라종(*Emericilla spp.*), 유로툼 종(*Euroteum spp.*), 유페니실리움 종(*Eupenicillium spp.*), 네오사르토리아 종

(*Neosartorya spp.*), 타라로마이세스종(*Talaromyces spp.*); 하이포크레알레(*Hypocreales*) 바람직하게는 하이포크레시아(*Hypocreaceae*), 바람직하게는 하이포크레아 종(*Hypocrea spp.*); 사카로미세탈레(*Saccharomycetales*) 바람직하게는 디포다스카시에(*Dipodascaceae*) 바람직하게는 디포다스쿠스 종(*Dipodascus spp.*), 갈락토미세스 종(*Galactomyces spp.*), 엔도미세타시에(*Endomycetaceae*) 바람직하게는 엔도미세스종(*Endomyces spp.*), 메트쉬니코위아시에(*Metschnikowiaceae*) 바람직하게는 구웨리에르몬델라종(*Guilliermondella spp.*), 사카로미세타시에(*Saccharomycetaceae*), 바람직하게는 데바리오미세스 종(*Debaryomyces spp.*), 데카라 종(*Dekkera spp.*), 피치아 종(*Pichia spp.*), 클루베로미세스 종(*Kluyveromyces spp.*), 사카로마이세스 종(*Saccharomyces spp.*), 토루라스포라 종(*Torulaspora spp.*), 자이코사카로미세스 종(*Zygosaccharomyces spp.*), 사카로미코다시에(*Saccharomycodaceae*), 바람직하게는 한세니아스포라 종(*Hanseniaspora spp.*); 쉬쵸사카로미세칼레스(*Schizosaccharomycetales*) 바람직하게는 쉬쵸사카로미세타시에(*Schizosaccharomycetaceae*) 바람직하게는 쉬쵸사카로미세스종(*Schizosaccharomyces spp.*); 소르다리아알레스(*Sordariales*) 바람직하게는 채아토미아치에(*Chaetomiaceae*) 바람직하게는 채아토폴종(*Chaetomium spp.*), 소르다리아아시에(*Sordariaceae*) 바람직하게는 뉴로스포라종(*Neurospora spp.*); 자이코미코타(*Zygomycota*) 바람직하게는 뮤코알레스(*Mucorales*) 바람직하게는 뮤코라시에(*Mucoraceae*) 바람직하게는 아비시디아종(*Absidia spp.*), 아밀로미세스종(*Amylomyces spp.*), 리쵸뮤코르종(*Rhizomucor spp.*), 악티노뮤코르종(*Actinomucor spp.*), 테르모뮤코르종(*Thermomucor spp.*), 클라미도뮤코르종(*Chlamydomucor spp.*), 뮤코르 종(*Mucor spp.*) 바람직하게는 뮤코르 크리시넬로이드(*Mucor circinelloides*), 뮤코르 그리세시아누스(*Mucor grisecyanus*), 뮤코르 히말리스(*Mucor hiemalis*), 뮤코르 인디쿠스(*Mucor indicus*), 뮤코르 뮤세도(*Mucor mucedo*), 뮤코르 피리포르미스(*Mucor piriformis*), 뮤코르 플룸베우스(*Mucor plumbeus*), 뮤코르 프라이니(*Mucor prainii*), 뮤코르 푸실러스(*Mucor pusillus*), 뮤코르 실바티쿠스(*Mucor silvaticus*), 뮤코르 자바니쿠스(*Mucor javanicus*), 뮤코르 라세모수스(*Mucor racemosus*), 뮤코르 로우시아누스(*Mucor rouxianus*), 뮤코르 로우시(*Mucor rouxii*), 뮤코르 아로마티쿠스(*Mucor aromaticus*), 뮤코르 플라부스(*Mucor flavus*), 뮤코르 미하이(*Mucor miehei*), 리조푸스종(*Rhizopus spp.*) 바람직하게는 리조푸스 아르히주스(*Rhizopus arrhizus*), 리조푸스 올리고스포루스(*Rhizopus oligosporus*), 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) 바람직하게는 ATCC 4858, ATCC 9363, NRRL 1891, NRRL 1472, 리조푸스 스톨로니퍼(*Rhizopus stolonifer*), 리조푸스 타일란데니스(*Rhizopus thailandensis*), 리조푸스 포르모사엔시스(*Rhizopus formosaensis*), 리조푸스 친넨시스(*Rhizopus chinensis*), 리조푸스 콘니(*Rhizopus cohnii*), 리조푸스 자포니쿠스(*Rhizopus japonicus*), 리조푸스 노도수스(*Rhizopus nodosus*), 리조푸스 델레마르(*Rhizopus delemar*), 리조푸스 아세토리누스(*Rhizopus acetorinus*), 리조푸스 클라미도스포루스(*Rhizopus chlamydosporus*), 리조푸스 시르시난스(*Rhizopus circinans*), 리조푸스 자바니쿠스(*Rhizopus javanicus*), 리조푸스 페카(*Rhizopus peka*), 리조푸스 사이토(*Rhizopus saito*), 리조푸스 트리티치(*Rhizopus tritici*), 리조푸스 니베우스(*Rhizopus niveus*), 리조푸스 마이크로스포루스(*Rhizopus microsporus*); 미토스포르 곰팡이(*Mitosporic fungi*) 바람직하게는 아우레바시디움 종(*Aureobasidium spp.*), 아크레모니움 종(*Acremonium spp.*), 세르코스포라 종(*Cercospora spp.*), 에피코쿰 종(*Epicoccum spp.*), 모닐리아 종(*Monilia spp.*) 바람직하게는 모닐리아 칸디다(*Monilia candida*), 모닐리아 시토펠리아(*Monilia sitophila*), 미코데르마 종(*Mycoderma spp.*), 칸디다종(*Candida spp.*) 바람직하게는 칸디다 디덴시에(*Candida diddensiae*), 칸디다 에닥스(*Candida edax*), 칸디다 에첼시(*Candida etchellsii*), 칸디다 케피르(*Candida kefir*), 칸디다 크리세이(*Candida krisei*), 칸디다 락토사(*Candida lactosa*), 칸디다 람비카(*Candida lambica*), 칸디다 메리니(*Candida melinii*), 칸디다 유틸리스(*Candida utilis*), 칸디다 밀레리(*Candida milleri*), 칸디다 미코데르마(*Candida mycoderma*), 칸디다 파라피실로시스(*Candida parapsilosis*), 칸디다 오무투스(*Candida obtux*), 칸디다 트로피칼리스(*Candida tropicalis*), 칸디다 발리다(*Candida valida*), 칸디다 베르사틸리스(*Candida versatilis*), 칸디다 킬리에르몽디(*Candida guilliermondii*), 로도토룰라 종(*Rhodotorula spp.*), 토룰롭시스 종(*Torulopsis spp.*), 지오텐리쿰 종(*Geotrichum spp.*) 바람직하게는 지오텐리쿰 아세밀리움(*Geotrichum amycelium*), 지오텐리쿰 아르밀리에(*Geotrichum armillariae*), 지오텐리쿰 아스테로이데스(*Geotrichum asteroides*), 지오텐리쿰 비펀타툼(*Geotrichum bipunctatum*), 지오텐리쿰 둘시툼(*Geotrichum dulcitum*), 지오텐리쿰 에리엔스(*Geotrichum eriense*), 지오텐리쿰 피치(*Geotrichum fici*), 지오텐리쿰 플라보-브룬네움(*Geotrichum flavo-brunneum*), 지오텐리쿰 후라그란스(*Geotrichum fragrans*), 지오텐리쿰 그라실레(*Geotrichum gracile*), 지오텐리쿰 헤리툼(*Geotrichum heritum*), 지오텐리쿰 클레방키(*Geotrichum klebaknii*), 지오텐리쿰 페니실라툼(*Geotrichum penicillatum*), 지오텐리쿰 히르툼(*Geotrichum hirtum*), 지오텐리쿰 슈도칸디툼(*Geotrichum pseudocandidum*), 지오텐리쿰 렉탄굴라툼(*Geotrichum rectangulatum*), 지오텐리쿰 슈라베오렌스(*Geotrichum suaveolens*), 지오텐리쿰 반리에(*Geotrichum vanryiae*), 지오텐리쿰 로비에리(*Geotrichum loubieri*), 지오텐리쿰 마이크로스포리움(*Geotrichum microsporum*), 클라도스포리움 종(*Cladosporium spp.*), 트리코데르마 종(*Trichoderma spp.*) 바람직하게는 트리코데르마 하마툼(*Trichoderma hamatum*), 트리코데르마 하르지아눔(*Trichoderma harzianum*), 트리코데르마 코닝지(*Trichoderma koningii*), 트리코데르마 슈도코닝지(*Trichoderma pseudokoningii*), 트리코데르마 리세이(*Trichoderma reesei*), 트리코데르마 비르가툼(*Trichoderma virgatum*), 트리코데르마 비리데(*Trichoderma viride*), 오이디움종(*Oidium spp.*), 알테르나리아 종(*Alternaria spp.*) 바람직하게는 알테르나리아 알테르나타(*Alternaria alternata*), 알테르나리아 테누이스(*Alternaria tenuis*), 헬민토스포리움 종(*Helminthosporium spp.*) 바람직하게는 헬민토스포리움 그라미네움(*Helminthosporium gramineum*), 헬민토스포리움 사티툼(*Helminthosporium sativum*), 헬민토스포리움 테레스(*Helminthosporium teres*), 아스퍼질러스 종(*Aspergillus*

spp; R.A. Samson ((1994) in Biotechnological handbooks, Volume 7 : *Aspergillus*, edited by Smith, J.E. (273 pp), Plenum Press) 바람직하게는 아스퍼질러스 오크라세우스 군(*Aspergillus ochraseus* Group)(Thom & Church), 아스퍼질러스 니둘란스 군(*Aspergillus nidulans* Group)(Thom & Church), 아스퍼질러스 베르시컬러 군(*Aspergillus versicolor* Group)(Thom & Church), 아스퍼질러스 윈티 군(*Aspergillus wentii* Group)(Thom & Raper), 아스퍼질러스 칸디두스 군(*Aspergillus candidus* Group)(Thom & Raper), 아스퍼질러스 플라부스 군(*Aspergillus flavus* Group)(Raper & Fennell), 아스퍼질러스 나이저 군(*Aspergillus niger* Group)(Thom & Church), 페니실룸 종(*Penicillium spp.*) 바람직하게는 페니실룸 아쿨레아툼(*Penicillium aculeatum*), 페니실룸 시르트리눔(*Penicillium citrinum*), 페니실룸 클라비포르름(*Penicillium claviforme*), 페니실룸 페니쿨로숨(*Penicillium funiculosum*), 페니실룸 이탈리아icum(*Penicillium italicum*), 페니실룸 나로소-비리데(*Penicillium lanoso-viride*), 페니실룸 에메로시니(*Penicillium emersonii*), 페니실룸 리라시눔(*Penicillium lilacinum*), 페니실룸 엑스판숨(*Penicillium expansum*)이다.

본 발명에 따르면, 보리, 밀, 옥수수, 귀리, 쌀, 기장, 라이밀, 사탕수수에서 선택된 맥아된 곡류를 만들기 위해서는 다음에서 선택된 박테리아를 이용한다; 마이크로코커스종(*Micrococcus spp.*), 스트렙토코커스종(*Streptococcus spp.*), 루코노스톡 종(*Leuconostoc spp.*), 페디오코커스종(*Pediococcus spp.*), 락토코커스 종(*Lactococcus spp.*), 락토바실러스 종(*Lactobacillus spp.*), 코리네박테리움 종(*Corynebacterium spp.*), 프로피오니박테리움종(*Propionibacterium spp.*), 비피도박테리움종(*Bifidobacterium spp.*), 스트렙토마이세스 종(*Streptomyces spp.*), 바실러스종(*Bacillus spp.*), 스포로락토바실러스 종(*Sporolactobacillus spp.*), 아세트박터 종(*Acetobacter spp.*), 아그로박테리움 종(*Agrobacterium spp.*), 알칼리제네스 종(*Alcaligenes spp.*), 슈도모나스 종(*Pseudomonas spp.*), 글루코노박터 종(*Gluconobacter spp.*), 엔테로박터 종(*Enterobacter spp.*), 에르위니아 종(*Erwinia spp.*), 클렙시엘라 종(*Klebsiella spp.*), 프로테우스 종(*Proteus spp.*) 또는 이의 혼합물; 아스코미코타(자낭균 *Ascomycota*) 바람직하게는 도티오딜스(*Dothideales*) 바람직하게는 미코스페르라시에(*Mycosphaerellaceae*) 바람직하게는 미코스페렐라 종(*Mycosphaerella spp.*), 벤투리아세아(*Venturiaceae*) 바람직하게는 벤투리아 종(*Venturia spp.*); 유로티아레(*Eurotiales*), 바람직하게는 모나스카제이(*Monascaceae*) 바람직하게는 모나스쿠스종(*Monascus spp.*), 트리초코마세(*Trichocomaceae*) 바람직하게는 에메리실라종(*Emericilla spp.*), 유로툼 종(*Euroteum spp.*), 유페니실리움 종(*Eupenicillium spp.*), 네오사르토리아 종(*Neosartorya spp.*), 타라로마이세스종(*Talaromyces spp.*); 하이포크레알레(*Hypocreales*) 바람직하게는 하이포크레시아(*Hypocreaceae*), 바람직하게는 하이포크레아 종(*Hypocrea spp.*); 사카로미세탈레(*Saccharomycetales*) 바람직하게는 디포다스카시에(*Dipodascaceae*) 바람직하게는 디포다스쿠스 종(*Dipodascus spp.*), 갈락토미세스 종(*Galactomyces spp.*), 엔도미세타시에(*Endomycetaceae*) 바람직하게는 엔도미세스종(*Endomyces spp.*), 메트쉬니코위아시에(*Metschnikowiaceae*) 바람직하게는 구웨리에르몽델라종(*Guilliermondella spp.*), 사카로미세타시에(*Saccharomycetaceae*), 바람직하게는 데바리오미세스 종(*Debaryomyces spp.*), 데카라 종(*Dekkera spp.*), 피치아 종(*Pichia spp.*), 클루베로미세스 종(*Kluyveromyces spp.*), 사카로마이세스 종(*Saccharomyces spp.*), 토룰라스포라 종(*Torulasporea spp.*), 자이고사카로미세스 종(*Zygosaccharomyces spp.*), 사카로미코다시에(*Saccharomycodaceae*), 바람직하게는 한세니아스포라 종(*Hanseniaspora spp.*); 쉬쪼사카로미세칼레스(*Schizosaccharomycetales*) 바람직하게는 쉬쪼사카로미세타시에(*Schizosaccharomycetaceae*) 바람직하게는 쉬쪼사카로미세스종(*Schizosaccharomyces spp.*); 소르다리아레스(*Sordariales*) 바람직하게는 체아토미아치에(*Chaetomiaceae*) 바람직하게는 체아토뫼종(*Chaetomium spp.*), 소르다리아시에(*Sordariaceae*) 바람직하게는 뉴로스포라종(*Neurospora spp.*); 자이고미코타(*Zygomycota*) 바람직하게는 뮤코알레스(*Mucorales*) 바람직하게는 뮤코라시에(*Mucoraceae*) 바람직하게는 아비시디아종(*Absidia spp.*), 아밀로미세스종(*Amylomyces spp.*), 리쪼뮤코르종(*Rhizomucor spp.*), 악티노뮤코르종(*Actinomucor spp.*), 테르모뮤코르종(*Thermomucor spp.*), 클라미도뮤코르종(*Chlamydomucor spp.*), 뮤코르 종(*Mucor spp.*), 리조푸스종(*Rhizopus spp.*), 미토스포르 곰팡이(*Mitosporic fungi*) 바람직하게는 아우레바시디움 종(*Aureobasidium spp.*), 아크레모니움 종(*Acremonium spp.*), 세르코스포라 종(*Cercospora spp.*), 에피코쿰 종(*Epicoccum spp.*), 모닐리아 종(*Monilia spp.*), 미코데르마 종(*Mycoderma spp.*), 칸디다종(*Candida spp.*), 로도토룰라 종(*Rhodotorula spp.*), 토룰롭시스 종(*Torulopsis spp.*), 지오텐리쿰 종(*Geotrichum spp.*), 클라도스포리움 종(*Cladosporium spp.*), 트리코데르마 종(*Trichoderma spp.*), 오이디움종(*Oidium spp.*), 알테르나리아 종(*Alternaria spp.*), 헬민토스포리움 종(*Helminthosporium spp.*), 아스퍼질러스 종(*Aspergillus spp.*), 페니실룸 종(*Penicillium spp.*)이다.

적절한 구체예에 따르면, 본 발명에 따른 맥아 곡류를 준비하는 공정은 다음의 단계로 구성된다; 가습 단계는 하나이상의 가습제를 포함하고, 생리화학적 이유로 가습동안에 물에 담그는 전체 시간은 30시간(바람직하게는 10 내지 25 시간)을 초과하지 않으며, 건조 단계는 두 가지 온도 단계를 포함하고, 미생물 배양물을 첨가하고, 이때 미생물 배양물은 리조푸스 종(*Rhizopus spp.*) 바람직하게는 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) 가령 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 9363; 슈도모나스 종(*Pseudomonas spp.*) 바람직하게는 슈도모나스 헤르비콜라(*Pseudomonas herbicola*) 또는 아스퍼질러스 종(*Aspergillus spp.*) 바람직하게는 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) 가령 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) 균주 ATCC 14156에서 선택을 한다.

본 발명에 따르면, 맥아된 곡류는 보리, 밀, 옥수수, 귀리, 쌀, 기장, 라이밀, 사탕수수에서 선택된다.

본 발명에 따른 공정에서, 활성화된 포자 존재 하에 동일한 또는 상이한 미생물 배양물을 1회 이상 첨가를 한다. 이용된 미생물 배양물은 바람직하게는 곰팡이 배양물이다. 활성화된 포자를 이용하면, 왕성한 성장으로 인하여 맥아 품질을 상당히 개선을 시킨다. 활성화된 포자는 다음의 성질중 하나를 가진다;

- (a) 가습 또는 건조과정;
- (b) 적절한 영양분 공급(아미노산과 같은 질소원 또는 당당류 및 이당류와 같은 탄소원) 또는 포자 원소의 추가;
- (c) 0 내지 80°C 범위의 온도범위에 노출;
- (d) pH 2.0 내지 8.0 적절하게는 3.0 내지 6.0의 변화에 노출.

당업자는 정확한 처리 단계를 용이하게 선택하여 전술한 포자의 팽창 또는 포자관을 수득할 수 있다.

본 발명은 또한 맥아된 곡류를 수득하는데 관계하는데, European Brewery Convention에 따른 분석결과가 개선되었음을 알 수 있다. 이와 같은 개선점은 가수분해 효소 활성이 개선된 또는 변형된 것과 연관이 있다. 동시에, 독소 수준이 감소되고, 푸자륨(*Fusarium*)과 같은 원하지 않는 세균총과 필적하여 미생물 안전성이 증가되고, 선행기술에 따른 맥아된 곡류와 비교할 때 수용성이 증가되는 것을 관찰할 수 있다.

예를 들면, 본 발명에 따른 맥아 곡류는 선행기술에 따른 맥아된 곡류보다 β-글루칸 함량이 적고 또는 β-글루카네이즈 또는 실란네이즈 활성(하기 실시예 및 도면에서 나타냄)이 더 큰 것을 알 수 있다. 이로써 맥아즙 및 맥주 생산에서 맥아의 처리성이 개선되는데 이는 여과 속도가 증가되는 것으로 알 수 있다.

본 발명의 또 다른 목적은 음료를 준비하기 위해 본 발명에 따른 맥아된 곡류를 이용하는 것에 관계한다.

본 발명은 또한 이와 같은 개선된 음료에 관계한다. 본 발명에 따른 개선된 맥아 곡류는 무(無)-알코올 음료 또는 저-알코올 맥주 또는 저-칼로리 맥주를 양조하는데 유익하게 이용될 수 있는데, 그 이유는 높아진 효소 활성으로 맥주에서 알코올을 더 효과적으로 제거할 수 있기 때문이다.

본 발명에 따른 개선된 맥아 곡류는 당분야에 공지된 다른 생명과학 공정에도 이용할 수 있는데, 대부분의 경우에 품질 개선이 있었다.

본 발명의 또 다른 목적은 제빵 산업에서 빵 첨가물과 같은 식품 기술, 고효율 동물 사료의 생산을 위한 사료 기술, 표백제와 같은 종이 및 펄프 기술 또는 계면활성제 조성물 등의 산업 기술에서 개선된 성질을 가지는 맥아된 곡류를 이용하는 것이다.

본 발명은 첨부된 도면과 함께 다양한 실시예에서 설명을 할 것이다.

도면의 간단한 설명

도 1은 실시예 1에 따른 준비과정에 따라 수득된 맥아 보리의 β-글루카네이즈 활성을 나타낸 것이다(범례; 실시예 1을 참고).

도 2는 실시예 1에 따른 준비과정에 따라 수득된 맥아 보리의 실란네이즈(xylanase) 활성을 나타낸 것이다(범례; 실시예 1을 참고).

도 3은 실시예 3에 따른 준비과정에 따라 수득된 맥아 보리의 β-글루카네이즈 활성을 나타낸 것이다(범례; 실시예 3을 참고).

도 4는 실시예 1에 따른 준비과정에 따라 수득된 맥아 보리의 실란네이즈(xylanase) 활성을 나타낸 것이다(범례; 실시예 3을 참고).

도 5는 세균 생산을 위한 관련 증가 인자(R.I.F.)를 나타낸다(명세서 참고, 맥아 평가, 실시예 2)(범례; 실시예 2를 참고).

실시예

실시예 1

1. 미생물 배양물을 준비

균주

S46: 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 9363

포자 현탁액을 준비

균주는 약 28°C에서 약 10일간 PDA(Potato Dextrose Agar, Oxoid)에서 생장을 시키고; 포자는 멸균 생리염(0.9NaCl)을 흐르게 하고, 포자형성된 균사체를 멸균된 주걱을 이용하여 문질러 수득한다;

포자 현탁액은 멸균 염(0.9NaCl)으로 2회 세척을 하고, 15 분간 원심분리(5500rpm, Sorvall type SS-34^R)하고, 멸균 생리염(0.9NaCl)로 재현탁시킨다;

포자 밀도는 Thoma Counter Chamber를 이용하여 현미경으로 관찰한다.

포자 현탁액의 활성화

10⁷ 포자를 20ml 멸균 산성화된 TSB(Tryptic Soy Broth, Oxoid)에 옮기고, ±42°C에서 5 내지 6 시간동안 교반시킨 수조에서 배양을 하고;

활성화된 포자는 15분간 원심분리(3500rpm, Sorvall type SS-34^R)를 하여 수득하고, 멸균 생리염(0.9NaCl)으로 세척을 하고, 15분간 원심분리(3500rpm, Sorvall type SS-34^R)하고, 멸균 생리염(0.9NaCl)에서 재현탁시킨다.

2. 보리

Plaisant - 1994 프랑스에서 수확

3. 공정

세트업

맥아는 네가지 다른 공정으로 만들 수 있다;

- A1. 통상적인 맥아 공정

(임의 포자 현탁액으로 접종하지 않음)

- B1. 활성화되지 않은 포자로 접종시킨 맥아 공정

(리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) strain ATCC 9363 현탁액으로 젖은 보리에 접종)

- C1. 본 발명에 따른 맥아 공정

(리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) strain ATCC 9363 활성 포자 현탁액으로 젖은 보리에 접종)

- D1. 본 발명에 따른 맥아 공정

(리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) strain ATCC 9363 활성 포자 현탁액으로 제 1 가습 단계동안에 젖은 보리에 접종)

담근

- 담근 단계는 수돗물 2kg으로 대기 건조된 보리를 1.5:1의 비율로 실행하였다;
- 천공관이 있는 2 발효기(Bioflo III, New Brunswick Scientific)를 이용한다;
- 온도 조절은 가습단계에서만 실시하고, 대기 단계에서는 시스템은 실온(±20℃)으로 유지시키고;
- 전제 담근 단계동안에, 보리에 공기를 공급한다(분당 1ℓ의 멸균 공기);
- 다음 과정에 따라 담근질한다;

표 1.

	온도(℃)	시간(h)
제 1 가습 단계	13	6:00
제 1 대기 휴지 단계	20	17:00
제 2 가습 단계	14	5:00
제 2 대기 휴지 단계	20	15:30
제 3 가습 단계	16	2:30

미생물 배양물의 첨가

- 액체에 담근 보리 ±460g를 포자가 없는 수돗물 0.5ℓ(A1), 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 9363의 활성화된 포자를 포함하는 수돗물 0.5ℓ(B1), 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 9363의 활성화된 포자를 포함하는 수돗물 0.5ℓ(C1, 본 발명에 따른), B1과 C1의 경우에, 젖은 보리에 대기 건조된 보리 g당 10⁴ 포자를 접종시킨다;
- 담근 과정동안에, 대기 건조된 보리 g당 10⁴ 활성화된 포자는 제 1 가습 단계(D1)의 물에 접종을 한다;
- 유체는 배수하여 제거한다.

발아

- 4일간 16-18℃ 온도에서 천공된 뚜껑이 있는 실린더형 용기에서 발아를 시킨다;
- 공기는 자연 확산을 통하여 공급한다;
- 용기는 전기제어 롤러 시스템(Cellroll^(R), Tecnorama)에서 회전을 시키는데, 가령, 매 두 시간마다 1 rpm에서 15분간 회전을 시킨다.

건조

-건조는 Joe White 맥아 유닛(Australia)에서 실행한다.

표 2.

	공기흐름()	순환공기()	온도(℃)	시간(h)
제 1 건조 단계	25	0	62	3:00
제 2 건조 단계	25	0	65	2:00
제 3 건조 단계	25	0	68	2:00
제 4 건조 단계	25	25	73	2:00
제 5 건조 단계	25	50	78	1:00
제 6 건조 단계	25	75	80	2:00
제 7 건조 단계	25	100	83	6:00
공기 차단				종료

4. 분석 방법 및 결과

Analytica-European Brewery Convention(Fourth Edition, 1987, Brauerei und Getranke-Rundschau)에 따른 수분, 추출, 추출 차이, 색깔, 총 단백질 함량, 가용성 단백질 함량, Kolbach 지수, pH, 당화력을 결정하는 방법.

Analytica-European Brewery Convention(Fourth Edition, 1987, Brauerei und Getranke-Rundschau, supplement published in 1989)에 따른 탁도, 부서지는 정도, 균질성, 전체 곡류, β-글루칸 함량 등을 결정하는 방법.

맥아즙의 색깔은 2시간동안 108℃에서 콘그레스(congress) 맥아 즙을 가열한 후에 결정한다. 콘그레스 맥아 즙의 점도는 Delta-점도계를 이용하여 결정한다.

여과 용적을 결정하기 위해, 콘그레스 맥아 즙은 Schleicher and Schuell 597 1/2 접힌 필터에서 여과시킨다. 여과 1시간 후에 수득된 용적(ml)이 맥아즙의 여과 용적이 된다.

Carlsberg 방법(Analytica-European Brewery Convention, Fourth Edition, 1987, Brauerei und Getranke-Rundschau)에 따른 Calcofluor 장치(Haffmans)로 변형도를 결정한다.

β-글루카네이즈와 실라네이즈 활성은 각각 β-글루카지임 방법(Megazyme (Austr.) Pty Ltd (April, 1993)) 및 실라자임 방법((Megazyme (Austr.) Pty Ltd (September, 1995))을 이용하여 결정한다.

표 3.

	전통 맥아 공정(A1)	활성포자없이접종된 맥아 공정(B1)	본발명에 따른 맥아공정(C1)	본발명에 따른 맥아공정(D1)
수분	3.9	4.1	3.8	4.3
추출물	80.3	80.4	80.3	79.8
추출물 차이	0.8	0.8	0.4	1.1
색깔	3.3	3.3	4.1	4.1
맥아즙 탁도	1.3	1.2	0.7	0.8
나중 색깔	6.0	6.0	7.3	7.5
총 단백질함량	10.1	10.3	10.0	10.1
가용성단백질함량	4.1	4.4	4.8	5.2
Kolbach 지수	40.6	42.7	48.0	51.0
점성도	1.57	1.52	1.52	1.54
pH	6.05	6.3	5.87	5.79
당화력	345	349	352	419
전체 곡류	0.3	0.3	0.1	ND
부서짐 정도	83	82	83.9	ND
균질성	98.5	97.9	98.6	ND
β-글루칸 함량	122	108	46	<40
여과 용적	210	265	290	275
변형도	88.2	90.5	93.4	ND
β-글루카나제	214	371	683	3856
실라네이즈활성	28	34	56	984

ND: 결정하지 않음

도 1과 도 2는 수득된 맥아 보리의 각각 β -글루카나제 및 실라네이즈 활성을 나타낸다(A1, B1, C1, D1). β -글루카나제 활성은 β -글루카지임 방법[Megazyme(Austr.) Pty Ltd.(April, 1993)]으로 결정한다. 따라서, 맥아 β -글루카나제 활성(U/kg)은 $380 \times E(590nm) + 20$ 로 계산될 수 있다. 실라네이즈 활성은 엔도 1-4-실라자임 방법[Megazyme (Austr.) Pty Ltd. (September 1995)]으로 결정할 수 있다. 따라서, 맥아 실라네이즈(U/kg)는 $(46.8 \times E(590nm) + 0.9) \times 5$ 로 계산한다.

실시예 2

1. 미생물 배양물을 준비

균주

S46: 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 9363

포자 현탁액을 준비

실시예 1에서 설명한 것과 동일

포자 현탁액의 활성화

실시예 1에서 설명한 것과 동일

2. 보리

Stander - 1995 북미에서 수확

3. 공정

세트업

맥아는 여섯 가지 다른 공정으로 만들 수 있다;

- A2. 통상적인 맥아 공정

(임의 포자 현탁액으로 접종하지 않음)

- B2. 활성화되지 않은 포자로 접종시킨 맥아 공정

(리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) strain ATCC 9363 현탁액으로 젖은 보리에 접종)

- C2. 본 발명에 따른 맥아 공정

(리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) strain ATCC 9363 활성 포자 현탁액으로 젖은 보리에 접종)

- D2. 본 발명에 따른 맥아 공정

(리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) strain ATCC 9363 활성 포자 현탁액으로 제 2 가습 단계동안에 젖은 보리에 접종)

- E2. 본 발명에 따른 맥아 공정

(리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) strain ATCC 9363 활성 포자 현탁액으로 제 3 가습 단계동안에 젖은 보리에 접종)

- F2. 본 발명에 따른 맥아 공정

(리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) strain ATCC 9363 활성 포자 현탁액으로 젖은 보리에 접종)

담금 및 미생물 배양물의 추가

- 담금 단계는 수돗물 300kg으로 대기 건조된 보리를 5:3의 비율로 실행하였다;
- 2000ml 플라스크를 이용한다;
- 가습단계 및 대기 휴지 단계 동안에 온도는 18℃로 유지하고;
- 전제 담금 단계동안에, 보리에 압축 공기를 공급한다;
- 다음 과정에 따라 담금질한다;

표 4.

	시간(h)
제 1 가습 단계	6:00
제 1 대기 휴지 단계	18:00
제 2 가습 단계	5:00
제 2 대기 휴지 단계	19:00
제 3 가습 단계	2:00

- 담금 과정동안에, 대기 건조된 보리 g당 10⁴ 활성화된 포자는 보리를 담그기전에 제 1 가습 단계(C1)의 물, 제 2 가습 단계의 물(D2) 또는 제 3 가습 단계의 물에 접종을 한다;

- 담금질된 보리는 포자가 없는 물(A2, C2, D2, E2), 비-활성 포자(B2) 또는 활성 포자(F2)를 포함하는 수돗물 0.5ℓ에 담군다.

B2와 F2의 경우에 담금질 된 보리에 대기 건조된 보리g당 10⁴ 포자를 접종시킨다;

- 유체는 배수하여 제거한다.

발아

- 실시예 1에 상술된 것과 같음.

건조

- 실시예 1에 상술된 것과 같음.

맥아 평가

세균 집단 증가 결정

맥아 공정 동안에 세균 집단 발전을 판단하기 위해, 관련 증가 인자(R.I.F)는 보리에서 발생하는 총 세균 수를 녹색 맥아에서 발생하는 총 세균 수로 나누면 된다. 100ppm 피마르신(pimaricine)이 보충된 Tryptic Soy Agar(Oxoid)에서 낱알 추출물 희석액 적정량을 도말하고, 3일간 28℃에서 배양한 후에 총 세균 수를 결정한다.

도 5에서는 실시예 2의 준비 공정에 따라 맥아공정 동안에 세균 집단의 증가를 나타낸다.

실시예 3

1. 미생물 배양물을 준비

균주

S46: 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 9363

포자 현탁액을 준비

- 실시예 1에서 설명.

포자 현탁액의 활성화

- 실시예 1에서 설명.

2. 보리

Plaisant - 1994 프랑스에서 수확

3. 공정

세트업

맥아는 세 가지 다른 공정으로 만들 수 있다;

- A3. 통상적인 맥아 공정

(임의 포자 현탁액으로 접종하지 않음)

- B3. 활성화되지 않은 포자로 접종시킨 맥아 공정

(리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) strain ATCC 9363 현탁액으로 젖은 보리에 접종)

- C3. 본 발명에 따른 맥아 공정

(리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) strain ATCC 9363 활성 포자 현탁액으로 젖은 보리에 접종)

담금

- 담금 단계는 수돗물 2kg으로 대기 건조된 보리를 1.5:1의 비율로 실행하였다;

- 담금 수의 pH는 유산 및 NaOH를 첨가하여 pH 5.5로 조절함;

- 천공판이 있는 2 발효기(Bioflo III, New Brunswick Scientific)를 이용하여 담금질한다;

- 온도 조절은 가습단계에서만 실시하고, 대기 단계에서는 시스템은 실온($\pm 20^{\circ}\text{C}$)으로 유지시키고;

- 전체 담금 단계동안에, 보리에 공기를 공급한다(분당 4ℓ의 멸균 공기);

- 다음 과정에 따라 담금질한다;

표 5.

	온도(℃)	시간(h)
제 1 가습 단계	13	6:00
제 1 대기 휴지 단계	20	17:00
제 2 가습 단계	14	5:00
제 2 대기 휴지 단계	20	15:30
제 3 가습 단계	16	2:30

미생물 배양물의 첨가

- 액체에 담긴 보리 460g을 포자가 없는 수돗물 0.5ℓ(A3), 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 9363의 활성화된 포자를 포함하는 수돗물 0.5ℓ(B3), 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 9363의 활성화된 포자를 포함하는 수돗물 0.5ℓ(C3, 본 발명에 따른), B3과 C3의 경우에, 젖은 보리에 대기 건조된 보리 g당 1.10^4 포자를 접종시킨다;

- 유체는 배수하여 제거한다.

발아

- 실시예 1에서 설명한 것과 같음.

건조

- 실시예 1에서 설명한 것과 같음.

4. 분석 방법 및 결과

실시예 1에서 설명한(4. 분석 방법 및 결과) 것과 같음.

다음 페이지의 표 6을 참고. 표에서

*A1/3 : 전통적인 맥아 공정

B1/3 : 비-활성화된 포자로 접종된 맥아 공정

C1/3 : 본 발명에 따른 맥아 공정

표 6.

	실시예 3; 당금액 pH 조절을 함(pH = 5.5)			실시예 1 당금액의 pH조절이 없음		
	A3	B3	C3	A1	B1	C1
수분	3.8	3.6	3.7	3.9	4.1	3.8
추출물	78.9	80.2	80.7	80.3	80.4	80.3
추출물 차이	0.6	0.7	0.4	0.8	0.8	0.4
색깔	3.2	4.2	4.4	3.3	3.3	4.1
맥아즙 탁도	1	1	0.8	1.3	1.2	0.7
니중 색깔	5.1	7	7.2	6	6	7.3
총단백질함량	10.2	10.1	10	10.1	10.3	10
가용성단백질함량	4	4.4	4.8	4.1	4.4	4.8
Kolbach 지수	39.2	43.6	48	40.6	42.7	48

점도	1.52	1.53	1.52	1.57	1.52	1.52
pH	6.02	5.97	5.91	6.05	6.03	5.87
당화력	348	333	355	345	349	352
전체 낱알	0.2	0.2	0.1	0.3	0.3	0.1
부서짐 정도	81	81	85	83	82	83.9
균질성	97.6	97.8	98.9	98.5	97.9	98.6
β-글루칸 함량	190	57	40	122	108	46
여과 용적	210	215	200	210	265	290
변형	84.1	85.5	87.4	88.2	90.5	93.4
β-글루카네이즈활성	202	931	1322	214	371	683
실라네이즈 활성	43	65	71	28	34	56

도 3에서는 맥아된 곡류 A3, B3, C3를 β-글루카자임 방법[Megazyme (AUSTR) Pty. Ltd.]에 따라 측정된 β-글루카네이즈 활성을 나타낸다. 실시예 1에서 설명한 것에 따라 맥아 β-글루카네이즈 활성(U/kg)을 계산하였다. A3는 담금액의 pH를 조절한(pH=5.5) 전통적인 맥아 공정에 의해 수득한 것이다. B3는 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) strain ATCC 9363 비-활성 포자 현탁액으로 젖은 보리에 접종하고, 담금액의 pH를 조절한(pH=5.5) 본 발명에 따른 맥아 공정에 따라 수득된 것이다. C3는 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) strain ATCC 9363 활성 포자 현탁액으로 젖은 보리에 접종하고, 담금액의 pH를 조절한(pH=5.5) 본 발명에 따른 맥아 공정에 따라 수득된 것이다.

이들 경과에서 담금액의 pH를 약 5.5로 조절하는 경우에 β-글루카네이즈 활성이 증가되는 것을 알 수 있다.

도 4에는 이에 상응하는 실라네이즈 활성을 나타내었다. 이는 실라자임 방법(Xylazyme method, Megazyme, ((AUSTR), Pty. Ltd. (September 1995))에 따라 측정된 것이다. 실시예 1에서 설명하는 것과 같이 맥아 실라네이즈 활성을 계산하였다.

실시예 1, 3에 따른 β-글루카네이즈 활성과 WO94/29430에 설명한 것과 같은 선행기술에 따른 β-글루카네이즈 활성을 비교

본 발명에 따른 β-글루카네이즈 활성에 대한 개선된 결과를 비교를 하기 위해, 다음과 같은 인자 μ를 정의한다;

수학식 1

$$\mu = \frac{\text{처리된 맥아의 } \beta \text{ 글루카네이즈 활성}}{\text{기준 맥아의 } \beta \text{ -글루카네이즈 활성}}$$

기준 맥아와 본 발명의 실시예 1과 3에서 설명을 하고 있는 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) strain ATCC 9363로 처리된 맥아에 대해서 이들 인자를 비교하였다.

또한, 지오티리쿰 칸디다(*Geotrichum candidum*)을 이용한 WO94/29430(실시예 1)에서 설명하는 데이터에 대해서도 계산을 하였다.

WO94/29430 및 본 발명에서 설명된 것과 같이, 베타-글루카자임 방법[Megazyme (Austr) Pty. Ltd. (April 1993)]에 따라 β-글루카네이즈 활성을 결정한다. 따라서, 맥아 β-글루카네이즈 활성(U/kg)은 380 × E (590nm) + 20으로 계산되고, 활성 1단위는 전술한 조건하에서 분당 감소 당 증가액 1μmole을 방출하는데 요구되는 효소량으로 정의한다.

결과 비교

표 7.

선행 기술			본 발명				
	μ	μ	μ	μ	μ	μ	
Gc*	1.48	Gc*	1.98	C1/A1	3.19	C3/A3	6.54

B1/A1	1.73	B3/A3	4.61	D1/A1	18.02		
-------	------	-------	------	-------	-------	--	--

*Gc : 지오틀리쿰 칸디다(*Geotrichum candidum*)

결과를 보면, 기존 기술(WO94/29430)보다 본원 발명에 따른 경우 맥아 β-글루카네이즈 활성이 상당히 증가된다는 것을 분명하게 알 수 있다.

따라서, 통상의 맥아 공정과 비교를 하였을 경우에 적어도 4배정도 β-글루카네이즈 활성이 증가된 맥아 곡류를 얻는 것이 가능하고, 이경우에, 미생물 배양물을 첨가하는 단계가 생략된다.

도 2 내지 4에서 볼 때, 통상의 맥아 공정과 비교를 하였을 경우에 적어도 4배정도 실라네이즈 활성이 증가된 맥아 곡류를 얻는 것이 가능하고, 이경우에, 미생물 배양물을 첨가하는 단계가 생략된다.

실시예 4

1. 미생물 배양물을 준비

균주

S40: 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 14156

포자 현탁액을 준비

-균주는 약 28℃에서 약 7일간 PDA(Potato Dextrose Agar, Oxoid)에서 생장을 시키고;

-포자는 멸균 생리염(0.9NaCl)을 흐르게 하고, 포자형성된 균사체를 멸균된 주걱을 이용하여 문질러 수득한다;

-포자 현탁액은 멸균 염(0.9NaCl)으로 2회 세척을 하고, 15 분간 원심분리(5500rpm, Sorvall type SS-34^R)하고, 멸균 생리염(0.9NaCl)로 재현탁시킨다;

-포자 밀도는 Thoma Counter Chamber를 이용하여 현미경으로 관찰한다.

포자 현탁액의 활성화

5.10⁷ 포자를 20ml 멸균 산성화된 TSB(Tryptic Soy Broth, Oxoid)에 옮기고, 35℃에서 3시간(1) 또는 1 시간(2) 동안 교반시킨 수조에서 배양을 한다.

2. 곡류

Clarine barley - 1995 프랑스에서 수확

3. 공정

세트업

맥아는 두 가지 다른 공정으로 만들 수 있다;

- A4. 통상적인 맥아 공정

(임의 포자 현탁액으로 접종하지 않음)

- E4. 본 발명에 따른 맥아 공정

(리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) 균주 ATCC 14156 활성 포자 현탁액으로 제 1 및 제 3 가습 단계동안에 젖은 보리에 접종)

담근

- 실시예 1에서 설명한 것과 같음.

미생물 배양물의 첨가

- 담근동안에, 대기 건조된 보리 g당 $5 \cdot 10^3$ 활성 포자(1)를 제 1 가습 단계의 물에 접종시키고; 대기 건조된 보리 g당 1.10^4 활성 포자(2)는 제 3 가습 단계(E4)의 물에 접종을 한다;

- 액체에 담근 보리 460g을 포자가 없는 수돗물 0.5ℓ(A5), 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 9363의 활성화된 포자를 포함하는 수돗물 0.5ℓ(F5), 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 9363의 활성화된 포자를 포함하는 수돗물 0.5ℓ(C3, 본 발명에 따른), B3과 C3의 경우에, 젖은 보리에 대기 건조된 보리 g당 1.10^4 포자를 접종시킨다;

- 유체는 배수하여 제거한다.

발아

- 4일간 16-18℃ 온도에서 천공된 뚜껑이 있는 실린더형 용기에서 발아를 시킨다;

- 공기는 자연 확산을 통하여 공급한다;

- 용기는 전기제어 롤러 시스템(Cellroll^(R), Tecnorama)에서 회전을 시키는데, 가령, 매 두시간마다 1 rpm에서 15분간 회전을 시킨다.

건조

- 실시예 1에서 설명하는 것과 동일함.

4. 분석 방법 및 결과

이는 실시예 1에서 설명을 하였다(4.분석 방법 및 결과)

낱알을 6개 범주로 분류하여 아크로스파이어(Acrospire)를 결정할 수 있는데, 가령 아크로스파이어가 없는 낱알(O), 아크로스파이어 길이가 1 내지 25(0-1/4), 길이가 25 내지 50(1/4 - 1/2), 길이가 50 내지 75(3/4 - 1), 길이가 >100(>1)인 것으로 분류를 할 수 있다.

표 8.

		0	0-1/4	1/4-1/2	1/2-3/4	3/4-1	>1
발아 1 일	A4	0	1	60	39	0	0
발아 1 일	E4	0	0	11	77	12	0
발아 4 일	A4	1	1	31	64	3	0
발아 4 일	E4	1	0	1	42	49	7

아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) ATCC 14156의 활성 포자를 이용하는 경우에 맥아 분석 내용이 개선 된 것을 볼 수 있다. 또한, 맥아 공정 동안에, 보리 아크로스파이어 길이가 통상의 공정을 이용하였을 때 보다 상당히 길어진다는 기대이상의 발견을 하였다.

표 9.

	통상적인 맥아 공정(A4)	본발명에따른 맥아공정(E4)
수분	4.3	4.0
추출물	80.9	81.1
추출물 차이	1.0	0.3
색깔	2.8	3.2
맥아즙 탁도	1.6	1.0
나중 색깔	4.8	5.4
총 단백질 함량	10.1	10.0
가용성 단백질 함량	3.9	4.5
Kolbach 지수	38.6	44.7
점성도	1.57	1.48
pH	5.98	5.89
당화력	197	201
전체 낱알	1.3	0.6
부서지는 정도	81	89
균질성	95.0	98.4
β -글루칸 함량	378	132
여과 용적	300	310
변형	83.9	98.9
β -글루카네이스 활성	309	392
실라네이스 활성	27.82	17.52

실시예 5

1. 미생물 배양물을 준비

균주

S40: 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 14156

S46: 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 9363

포자 현탁액을 준비

- 실시예 4의 내용과 동일함.

포자 현탁액의 활성화

S40의 경우

- $5 \cdot 10^7$ 포자를 20ml 멸균 산성화(pH=5.0)된 TSB(Tryptic Soy Broth, Oxoid)에 옮기고, 35°C에서 1 시간 동안 교반시킨 수조에서 배양을 한다.

-활성화된 포자는 원심분리(3500rpm, Sorvall type SS-34^R)로 15분간 수득하고, 멸균 생리 염(0.9NaCl)으로 재현탁시킨다.

S46의 경우

- $5 \cdot 10^7$ 포자를 20ml 멸균 산성화(pH=4.0)된 TSB(Tryptic Soy Broth, Oxoid)에 옮기고, 35°C에서 5시간 동안 교반시킨 수조에서 배양을 한다;

-활성화된 포자는 원심분리(3500rpm, Sorvall type SS-34^R)로 15분간 수득하고, 멸균 생리 염(0.9NaCl)으로 재현탁시킨다.

2. 곡류

Clarine - 1995 프랑스에서 수확

3. 공정

세트업

맥아는 두 가지 다른 공정으로 만들 수 있다;

- A5. 통상적인 맥아 공정

(임의 포자 현탁액으로 접종하지 않음)

- E5. 본 발명에 따른 맥아 공정

(리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) 균주 ATCC 14156 활성 포자 현탁액으로 제 1 가습 단계동안에 젖은 보리에 접종하고, 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) 균주 ATCC 9363 활성 포자 현탁액과 함께 담금질한다)

담금

- 실시예 1에서 설명한 것과 같음.

미생물 배양물의 첨가

- 담금동안에, 대기 건조된 보리 g당 1.10^4 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) 균주 ATCC 14156 활성 포자를 제 1 가습 단계의 물(F5, 본 발명에 따름)에 접종시키고;

- 액체에 담근 보리 $\pm 460g$ 을 포자가 없는 수돗물 0.5ℓ(A5), 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 9363의 활성화된 포자를 포함하는 수돗물 0.5ℓ(F5), F5의 경우에, 젖은 보리에 대기 건조된 보리 g당 1.10^4 포자를 접종시킨다;

- 유체는 배수하여 제거한다.

발아

- 실시예 4에서 설명한 것에 따름.

건조

-실시예 1에서 설명하는 것에 따름.

4. 분석 방법 및 결과

이는 실시예 1에서 설명을 하였다(4.분석 방법 및 결과)

아크로스파이어(Acrospire) 길이를 결정하는 방법은 실시예 4에서 설명을 하였다.

표 10.

		0	0-1/4	1/4-1/2	1/2-3/4	3/4-1	>1
발아 1일	A5	1	1	53	44	1	0
발아 1일	F5	0	1	21	73	5	0
발아 4일	A5	0	0	0	29	63	8
발아 4일	F5	0	0	0	13	63	24

표 11.

	통상적인 맥아공정(A5)	본발명에따른 맥아공정(F5)
수분	3.9	4.2
추출물	81.4	81.8
추출물 차이	0.9	1.1
색깔	3.8	3.8
맥아즙 탁도	1.4	1.0
나중 색깔	6.9	6.4
총 단백질 함량	10.1	10.2
가용성 단백질함량	4.8	5.2
Kolbach 지수	48.0	51.3
정도	1.51	1.50
pH	5.88	5.82
당화력	199	214
전체 낱알	0.8	1.1
부서지는 정도	89	95
균질성	98.3	98.3
β-글루칸 함량	120	51
여과 용적	270	220
변형	96.8	98.6
β-글루카네이즈 활성	263	907
실라네이즈 활성	28.86	57.76

실시예 6

1. 미생물 배양물을 준비

균주

S46: 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 9363

포자 현탁액을 준비

- 실시예 4에서 설명.

포자 현탁액의 활성화

- 5.10⁷ 포자를 20ml 멸균 산성화(pH=4.0)된 TSB(Tryptic Soy Broth, Oxoid)에 옮기고, 42°C에서 5 시간 동안 교반시킨 수조에서 배양을 한다.

- 활성화된 포자는 원심분리(3500rpm, Sorvall type SS-34^R)로 15분간 수득하고, 멸균 생리 염(0.9NaCl)으로 재현탁시킨다.

2. 곡류

밀: Mobil - 1996 벨기에에서 수확

3. 공정

세트업

맥아는 두 가지 다른 공정으로 만들 수 있다;

- A6. 통상적인 맥아 공정

(임의 포자 현탁액으로 접종하지 않음)

- D6. 활성화되지 않은 포자로 접종시킨 맥아 공정

(리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) strain ATCC 9363 현탁액으로 제 1 가습 단계동안에 젖은 밀에 접종)

담금

- 담금 단계는 수돗물 2kg으로 대기 건조된 보리를 1.5:1의 비율로 실행하였다;

- 천공판이 있는 2 발효기(Bioflo III, New Brunswick Scientific)를 이용하여 담금질한다;

- 온도 조절은 가습단계에서만 실시하고, 대기 휴지 단계에서는 시스템은 실온(±20℃)으로 유지시키고;

- 전체 담금 단계동안에, 보리에 공기를 공급한다(분당 4ℓ의 멸균 공기);

- 다음 과정에 따라 담금질한다;

표 12.

	온도(℃)	시간(h)
제 1 가습 단계	13	6:00
제 1 대기 휴지 단계	20	16:00
제 2 가습 단계	14	4:00
제 2 대기 휴지 단계	20	16:00
제 3 가습 단계	16	2:00

미생물 배양물의 첨가

- 담금과정동안에, 제 1 가습 단계(D6)의 물에 대기 건조된 보리 g당 1.10^4 활성 포자를 접종시킨다;

발아

- 실시예 4에서 설명한 것과 같음.

건조

- 실시예 1에서 설명한 것과 같음.

4. 분석 방법 및 결과

실시예 1에서 설명한(4. 분석 방법 및 결과) 것과 같음.

표 13.

	통상적인 맥아공정(A6)	본발명에따른 맥아공정(D6)
수분	5.5	5.4
추출물	83.6	85.5
추출물 차이	1.0	0.6
색깔	3.9	7.6
맥아즙 탁도	1.4	1.4
나중 색깔	5.8	11.5
총 단백질 함량	14.0	14.8
가용성 단백질함량	4.9	9.7
Kolbach 지수	35.0	65.5
점도	1.99	1.79
pH	6.02	5.63
당화력	183	193
전체 낱알	19.4	20.2
부서지는 정도	35	42
균질성	79.4	78.7
여과 용적	220	295
β -글루카네이즈 활성	10.9	16,640
실라네이즈 활성	16.85	1,620.1

실시예 7

1. 미생물 배양물을 준비

균주

S46: 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) ATCC 9363

포자 현탁액을 준비

-균주는 약 28℃에서 약 7일간 PDA(Potato Dextrose Agar, Oxoid)에서 생장을 시키고;

-포자는 멸균 생리염(0.9NaCl)을 흐르게 하고, 포자형성된 균사체를 멸균된 주걱을 이용하여 문질러 수득한다;

-포자 현탁액은 멸균 염(0.9NaCl)으로 2회 세척을 하고, 15 분간 원심분리(5500rpm, Sorvall type SS-34^R)하고, 멸균 생리염(0.9NaCl)로 재현탁시킨다;

-포자 밀도는 Thoma Counter Chamber를 이용하여 현미경으로 관찰한다.

포자 현탁액의 활성화

5.10^7 포자를 20ml 멸균 산성화(pH 4.0)된 TSB(Tryptic Soy Broth, Oxoid)에 옮기고, 42℃에서 5시간 동안 교반시킨 수조에서 배양을 한다.

2. 곡류

사탕수수(S14)

3. 공정

세트업

맥아는 두 가지 다른 공정으로 만들 수 있다;

- A7. 통상적인 맥아 공정

(임의 포자 현탁액으로 접종하지 않음)

- D7. 본 발명에 따른 맥아 공정

(리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) 균주 ATCC 9363 활성 포자 현탁액으로 제 1 가습 단계동안에 사탕수수에 접종)

세척

사탕수수 kg당 6ℓ수돗물을 이용하여 사탕수수를 세척하고, 나머지 물은 버린다.

담금

- 담금 단계는 수돗물 2kg으로 대기 건조된 보리를 1.5:1의 비율로 실행하였다;
- 천공판이 있는 2 발효기(Bioflo III, New Brunswick Scientific)를 이용하여 담금질한다;
- 온도 조절은 가습단계에서만 실시하고, 대기 휴지 단계에서는 시스템은 실온(±20℃)으로 유지시키고;
- 전제 담금 단계동안에, 보리에 공기를 공급한다(분당 4ℓ의 멸균 공기);
- 다음 과정에 따라 담금질한다;

표 14.

	온도(℃)	시간(h)
제 1 가습 단계	28	10:00
제 1 대기 휴지 단계	20	4:00
제 2 가습 단계	28	10:00
제 2 대기 휴지 단계	20	4:00
제 3 가습 단계	28	10:00
제 3 대기 휴지 단계	20	4:00

미생물 배양물의 첨가

- 담금동안에, 대기 건조된 사탕수수 g당 1.10⁴ 활성 포자(1)를 제 1 가습 단계(D7)의 물에 접종시킨다;

발아

- 4일간 28℃ 온도에서 천공된 뚜껑이 있는 실린더형 용기에서 ±460g 담금질된 사탕수수의 발아를 시킨다;
- 공기는 자연 확산을 통하여 공급한다;
- 용기는 전기제어 롤러 시스템(Cellroll^(R), Tecnorama)에서 회전을 시키는데, 가령, 매 두시간마다 1 rpm에서 15분간 회전을 시킨다.

건조

- 실시예 1에서 설명한 것과 동일.

4. 분석 방법 및 결과

실시예 1에서 설명한(4. 분석 방법 및 결과) 것과 같음.

표 15.

	통상적인 맥아공정(A7)	본발명에따른 맥아공정(D7)
β-글루카네이즈 활성	98	991
실라네이즈 활성	524.72	413.48

실시예 8; 제빵

실시예 1에서 설명된 밀 맥아 성능(A6: 통상적인 맥아 공정; D6: 본 발명에 따른 맥아 공정)은 Finney, K.F., An optimized straight-dough breadmaking method after 44 years, cereal Chemistry, 61, pp20-27(1984)에서 설명된 것에 따라 실행 비교하였다. 조리시에, 시판되는 백밀, 6.0설탕, 3.0Crisco(Crisco, Procter and Gamber, Cincinatti, OH, USA), 1.5염, 2.5효모(Bruggeman, belgium)을 이용하였다. 맥아는 0 내지 0.25농도 범위에서 테스트를 하였고, 동량의 밀가루로 대체하였다.

분석 방법 및 결과

빵 특정 용적(가령, 빵 g에서 중량당 cc의 용적)은 평지씨 대체물을 이용하여 결정하고, 빵 속을 평가하였다. 본 발명에 따른 맥아가 기존의 맥아 공정에 따른 맥아를 이용한 빵을 만들어 빵 속을 평가하였다. 본 발명에 따른 맥아가 기존의 맥아 공정에 의해 수득된 맥아보다 빵의 부피를 증가시키는 더 강력한 물질이라는 것을 알 수 있다. 동시에, 본 발명에 다른 맥아와 통상적인 공정에 의해 수득한 맥아를 이용하여 만든 빵의 구조를 비교하였을 경우에, 빵 속은 큰 차이가 없는 것을 알았다.

표 16.

	전통적인 맥아(A6)	본 발명에 따른 맥아(D6)
맥아 첨가 수준(%)	빵의 특정 용적(cc/g)	빵의 특정 용적(cc/g)
0.0	5.07	5.07
0.05	5.11	5.26
0.10	5.16	5.44
0.15	5.19	5.52
0.20	5.19	5.45
0.25	5.22	5.38

본 발명은 또한 공지의 맥아 빵과 비교를 하였을 때 빵의 부피가 3증가된 빵을 만드는 공정을 포함한다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

맥아된 곡류를 만드는 방법에 있어서,

- 5℃ 내지 30℃ 온도 범위에서 곡류에 1회 이상 수분을 가하여 곡류내 수분 함량이 20 내지 60중량%가 되게 하고,

- 2 내지 7일간 10℃ 내지 30℃ 온도에서 발아시킨 후에 온도를 40℃ 내지 150℃로 증가시켜 곡류내 수분 함량이 2 내지 15중량%가 되도록 건조시키고;

- 박테리아 또는 곰팡이에서 선택된 미생물 배양물을 곡류에 첨가시키는데, 이때 미생물 배양물에는 활성 포자를 이용하여 접종시키고, 활성 포자는 포자당 하나이상의 발아관을 가지며 발육 중지된 상태의 크기와 비교하였을 때 1.2 내지 10 배 이상 크기가 큰 것을 특징으로 하는 단계로 구성된 맥아 곡류를 만드는 방법.

청구항 2.

제 1 항에 있어서, 다음 과정 중 하나에 의해 포자를 활성화시키는 것을 특징으로 하는 방법.

- (a) 가습 또는 건조 반복 과정;
- (b) 적절한 영양분 공급 또는 포자 원소의 추가;
- (c) 온도 변화에 노출;
- (d) pH 변화에 노출.

청구항 3.

제 1 항에 있어서, 맥아 보리를 만드는데 이용되는 박테리아는 마이크로코커스 종(*Micrococcus spp.*), 스트렙토코커스 종(*Streptococcus spp.*), 루코노스톡(*Leuconostoc spp.*), 페디오코커스 종(*Pediococcus spp.*); 락토코커스 종(*Lactococcus spp.*), 락토바실러스 종(*Lactobacillus spp.*); 코리네박테리움 종(*Corynebacterium spp.*), 프로피오니박테리움 종(*Propionibacterium spp.*), 비피도박테리움 종(*Bifidobacterium spp.*), 스트렙토마이세스 종(*Streptomyces spp.*), 바실러스 종(*Bacillus spp.*), 스포로락토바실러스(*Sporolactobacillus spp.*), 아세트박터 종(*Acetobacter spp.*), 아그로박테리움 종(*Agrobacterium spp.*), 알칼리젠스 종(*Alcaligenes spp.*), 슈도모나스 종(*Pseudomonas spp.*), 글루코노박터 종(*Gluconobacter spp.*), 엔테로박터 종(*Enterobacter spp.*), 에르위니아 종(*Erwinia spp.*), 클렙스엘라 종(*Klebsiella spp.*), 프로테우스 종(*Proteus spp.*)에서 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4.

제 1 항에 있어서, 맥아 보리를 만드는데 이용되는 곰팡이는 Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi, 8th edition, 1995, edited by DL Hawksworth, PM Kirk, BC Sutton, and Debit-note Pegler (632 pp) Cab International) 에서 설명을 하고 있는 속(屬)에서 선택되는데, 아스코미코타(자낭균 *Ascomycota*), 도티오딜스(Dothideales), 미코스페르라시예(*Mycosphaerellaceae*), 미코스페렐라종(*Mycosphaerella spp.*), 벤투리아세아(*Venturiaceae*), 벤투리아종(*Venturia spp.*); 유로티아레(*Eurotiales*), 모나스카제이(*Monascaceae*), 모나스쿠스종(*Monascus spp.*), 트리쵸코마세(*Trichocomaceae*), 에메리실라종(*Emericilla spp.*), 유로툼종(*Euroteum spp.*), 유페니실리움종(*Eupenicillium spp.*), 네오사르토리아 종(*Neosartorya spp.*), 타라로마이세스종(*Talaromyces spp.*); 하이포크레알레(*Hypocreales*), 하이포크레시야(*Hypocreaceae*), 하이포크레아종(*Hypocrea spp.*); 사카로미세탈레(*Saccharomycetales*), 디포다스카시예(*Dipodascaceae*), 디포다스쿠스종(*Dipodascus spp.*), 갈락토미세스종(*Galactomyces spp.*), 엔도미세타시예(*Endomycetaceae*), 엔도미세스종(*Endomyces spp.*), 메트쉬니코위아시예(*Metschnikowiaceae*), 구웨리에르몬델라종(*Guilliermondella spp.*), 사카로미세타시예(*Saccharomycetaceae*), 데바리오미세스종(*Debaryomyces spp.*), 데카라종(*Dekkera spp.*), 피치아종(*Pichia spp.*), 쿨루베로미세스종(*Kluyveromyces spp.*), 사카로마이세스종(*Saccharomyces spp.*), 토루라스포라종(*Torulaspora spp.*), 자이코사카로미세스종(*Zygosaccharomyces spp.*), 사카로미코다시예(*Saccharomycodaceae*), 한세니아스포라 종(*Hanseniaspora spp.*); 쉬쨌사카로미세칼레스(*Schizosaccharomycetales*), 쉬쨌사카로미세타시예(*Schizosaccharomycetaceae*), 쉬쨌사카로미세스종(*Schizosaccharomyces spp.*); 소르다리아알레스(*Sordariales*), 체아토미아치예(*Chaetomiaceae*), 체아토뫼종(*Chaetomium spp.*), 소르다리아시예(*Sordariaceae*), 뉴로스포라종(*Neurospora spp.*); 자이코미코타(*Zygomycota*), 뮤코알레스(*Mucorales*), 뮤코라시예(*Mucoraceae*), 아비시

디아종(*Absidia spp.*), 아밀로미세스종(*Amylomyces spp.*), 리쫄뮤코르종(*Rhizomucor spp.*), 악티노뮤코르종(*Actinomucor spp.*), 테르모뮤코르종(*Thermomucor spp.*), 클라미도뮤코르종(*Chlamydomucor spp.*), 뮤코르종(*Mucor spp.*), 리조푸스종(*Rhizopus spp.*); 미토스포르 곰팡이(*Mitosporic fungi*), 아우레바시디움종(*Aureobasidium spp.*), 아크레모니움종(*Acremonium spp.*), 세르코스포라종(*Cercospora spp.*), 에피코쿰종(*Epicoccum spp.*), 모닐리아종(*Monilia spp.*) 미코테르마종(*Mycoderma spp.*), 칸디다종(*Candida spp.*), 로도토룰라종(*Rhodotorula spp.*), 토룰롭시스종(*Torulopsis spp.*), 지오텐리쿰종(*Geotrichum spp.*), 클라도스포리움종(*Cladosporium spp.*), 트리코테르마종(*Trichoderma spp.*), 오이디움종(*Oidium spp.*), 알테르나리아종(*Alternaria spp.*), 헬민토스포리움종(*Helminthosporium spp.*), 아스퍼질러스종(*Aspergillus spp.*; R.A. Samson ((1994) in *Biotechnological handbooks*, Volume 7 : *Aspergillus*, edited by Smith, J.E. (273 pp), Plenum Press), 페니실룸종(*Penicillium spp.*)에서 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5.

제 1 항에 있어서, 맥아 보리이외에 맥아 곡류를 만드는데 이용되는 박테리아는 마이크로코커스 종(*Micrococcus spp.*), 스트렙토코커스 종(*Streptococcus spp.*), 루코노스톡(*Leuconostoc spp.*), 페디오코커스 종(*Pediococcus spp.*); 락토코커스 종(*Lactococcus spp.*), 락토바실러스 종(*Lactobacillus spp.*); 코리네박테리움 종(*Corynebacterium spp.*), 프로피오니박테리움 종(*Propionibacterium spp.*), 비피도박테리움 종(*Bifidobacterium spp.*), 스트렙토마이세스 종(*Streptomyces spp.*), 바실러스 종(*Bacillus spp.*), 스포로락토바실러스(*Sporolactobacillus spp.*), 아세트박터 종(*Acetobacter spp.*), 아그로박테리움 종(*Agrobacterium spp.*), 알칼리젠스 종(*Alcaligenes spp.*), 슈도모나스 종(*Pseudomonas spp.*), 글루코노박터 종(*Gluconobacter spp.*), 엔테로박터 종(*Enterobacter spp.*), 에르위니아 종(*Erwinia spp.*), 클렙스엘라 종(*Klebsiella spp.*), 프로테우스 종(*Proteus spp.*)에서 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6.

제 1 항에 있어서, 맥아 보리이외의 맥아 곡류를 만드는데 이용되는 곰팡이는 아스코미코타(자낭균 *Ascomycota*), 도티오딜스(*Dothideales*), 미코스페르라시예(*Mycosphaerellaceae*), 미코스페렐라종(*Mycosphaerella spp.*), 벤투리아세아(*Venturiaceae*), 벤투리아종(*Venturia spp.*); 유로티아레(*Eurotiales*), 모나스카제이(*Monascaceae*), 모나스쿠스종(*Monascus spp.*), 트리쵸코마세(*Trichocomaceae*), 에메리실라종(*Emericilla spp.*), 유로툼 종(*Euroteum spp.*), 유페니실리움 종(*Eupenicillium spp.*), 네오사르토리아 종(*Neosartorya spp.*), 타라로마이세스종(*Talaromyces spp.*); 하이포크레알레(*Hypocreales*), 하이포크레시아(*Hypocreaceae*), 하이포크레아 종(*Hypocrea spp.*); 사카로미세탈레(*Saccharomycetales*), 디포다스카시예(*Dipodascaceae*), 디포다스쿠스종(*Dipodascus spp.*), 갈락토미세스 종(*Galactomyces spp.*), 엔도미세타시예(*Endomycetaceae*), 엔도미세스종(*Endomyces spp.*), 메트쉬니코위아시예(*Metschnikowiaceae*), 구웨리에르몽델라종(*Guilliermondella spp.*), 사카로미세타시예(*Saccharomycetaceae*), 데바리오미세스 종(*Debaryomyces spp.*), 데카라 종(*Dekkera spp.*), 피치아 종(*Pichia spp.*), 쿨루베로미세스 종(*Kluyveromyces spp.*), 사카로마이세스 종(*Saccharomyces spp.*), 토룰라스포라 종(*Torulaspota spp.*), 자이고사카로미세스 종(*Zygosaccharomyces spp.*), 사카로미코다시예(*Saccharomycodaceae*), 한세니아스포라 종(*Hanseniaspora spp.*); 쉬쫄사카로미세칼레스(*Schizosaccharomycetales*), 쉬쫄사카로미세타시예(*Schizosaccharomycetaceae*), 쉬쫄사카로미세스종(*Schizosaccharomyces spp.*); 소르다리아알레스(*Sordariales*), 체아토미아치예(*Chaetomiaceae*), 체아토크종(*Chaetomium spp.*), 소르다리아시예(*Sordariaceae*), 뉴로스포라종(*Neurospora spp.*); 자이고미코타(*Zygomycota*), 뮤코알레스(*Mucorales*), 뮤코라시예(*Mucoraceae*), 아비시디아종(*Absidia spp.*), 아밀로미세스종(*Amylomyces spp.*), 리쫄뮤코르종(*Rhizomucor spp.*), 악티노뮤코르종(*Actinomucor spp.*), 테르모뮤코르종(*Thermomucor spp.*), 클라미도뮤코르종(*Chlamydomucor spp.*), 뮤코르 종(*Mucor spp.*), 리조푸스종(*Rhizopus spp.*); 미토스포르 곰팡이(*Mitosporic fungi*), 아우레바시디움 종(*Aureobasidium spp.*), 아크레모니움 종(*Acremonium spp.*), 세르코스포라 종(*Cercospora spp.*), 에피코쿰 종(*Epicoccum spp.*), 모닐리아 종(*Monilia spp.*) 미코테르마 종(*Mycoderma spp.*), 칸디다종(*Candida spp.*), 로도토룰라 종(*Rhodotorula spp.*), 토룰롭시스 종(*Torulopsis spp.*), 지오텐리쿰 종(*Geotrichum spp.*), 클라도스포리움 종(*Cladosporium spp.*), 트리코테르마 종(*Trichoderma spp.*), 오이디움 종(*Oidium spp.*), 알테르나리아 종(*Alternaria spp.*), 헬민토스포리움 종(*Helminthosporium spp.*), 아스퍼질러스 종, 페니실룸 종(*Penicillium spp.*)에서 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7.

제 1 항에 있어서, 가습 단계에서 물에 침잠시키는 총 시간이 30시간을 초과하지 않도록 하고, 건조는 두 가지 온도 단계를 포함하고, 미생물 배양물은 리조푸스(*Rhizopus spp*)종, 슈도모나스(*Pseudomans spp*)종 또는 아스퍼질러스(*Aspergillus spp.*)종에서 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8.

제 7 항에 있어서, 리조푸스(*Rhizopus spp*)종은 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*) 균주 ATCC 9363인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9.

제 7 항에 있어서, 아스퍼질러스(*Aspergillus*)종은 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) 균주 ATCC 14156인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10.

제 1 항에 있어서, 곡류는 살균된 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11.

포자를 첨가하지 않는 맥아 공정과 비교하였을 때, 제 1 항에 따른 방법으로 생성된 맥아 곡류의 β -글루카네이즈 활성은 최소 4배 증가되었고, 실라네이즈 활성은 최소 4배 증가된 것을 특징으로 하는 맥아된 곡류.

청구항 12.

제 1 항에 따른 방법으로 생성된 맥아 곡류의 β -글루카네이즈 활성은 700U/kg이상이고, 실라네이즈 활성은 250U/kg 이상인 것을 특징으로 하는 맥아된 곡류.

청구항 13.

삭제

청구항 14.

제 11 항에 있어서, 포자를 첨가하지 않은 맥아 공정과 비교 하였을 때, 생성된 맥아 곡류는 가수분해 효소 활성이 증가되는 것과 같은 효소 활성이 개선되고, 독소의 수준이 감소되었고, 미생물 안정성이 증가되었고, 수용성이 증가된 것을 특징으로 하는 맥아 곡류.

청구항 15.

제 11 항에 있어서, 포자를 첨가하지 않은 맥아 공정과 비교 하였을 때, 아크로스파이어 길이가 상당히 증가된 것을 특징으로 하는 맥아 곡류.

청구항 16.

삭제

청구항 17.

삭제

청구항 18.

삭제

청구항 19.

삭제

청구항 20.

삭제

청구항 21.

삭제

청구항 22.

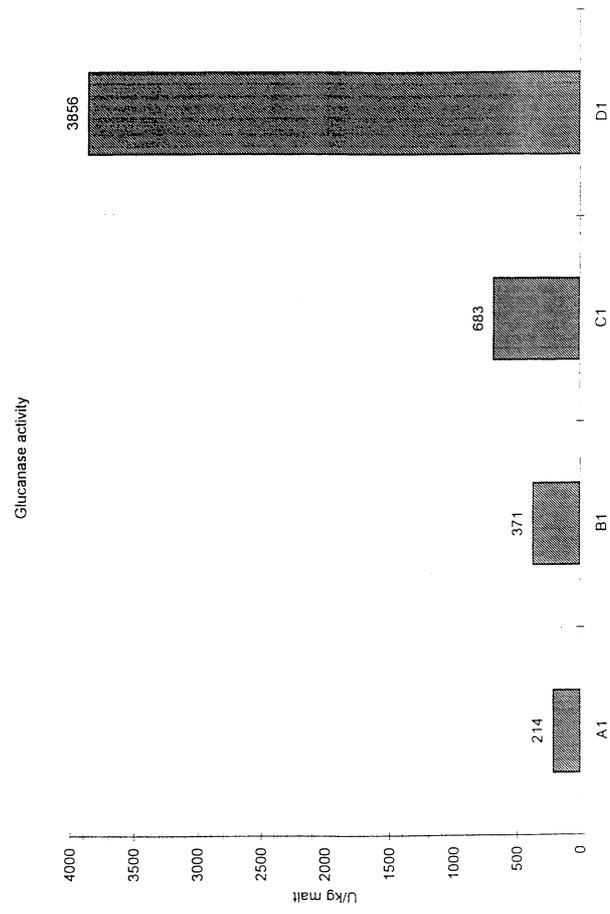
삭제

청구항 23.

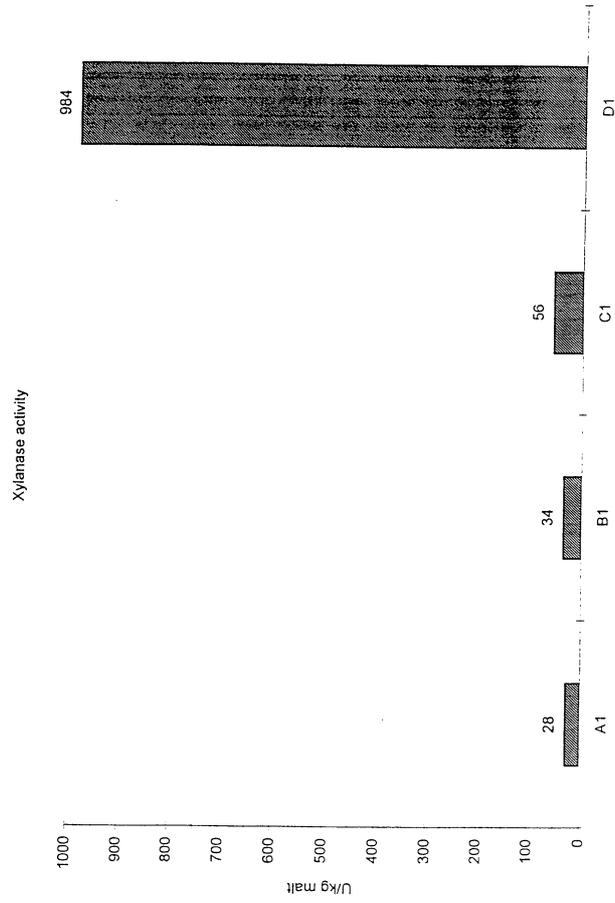
삭제

도면

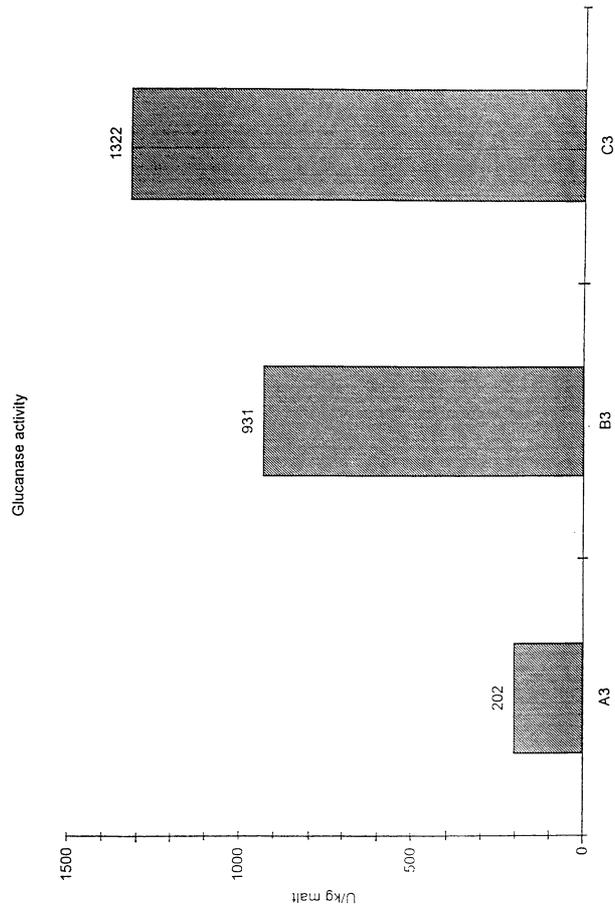
도면1



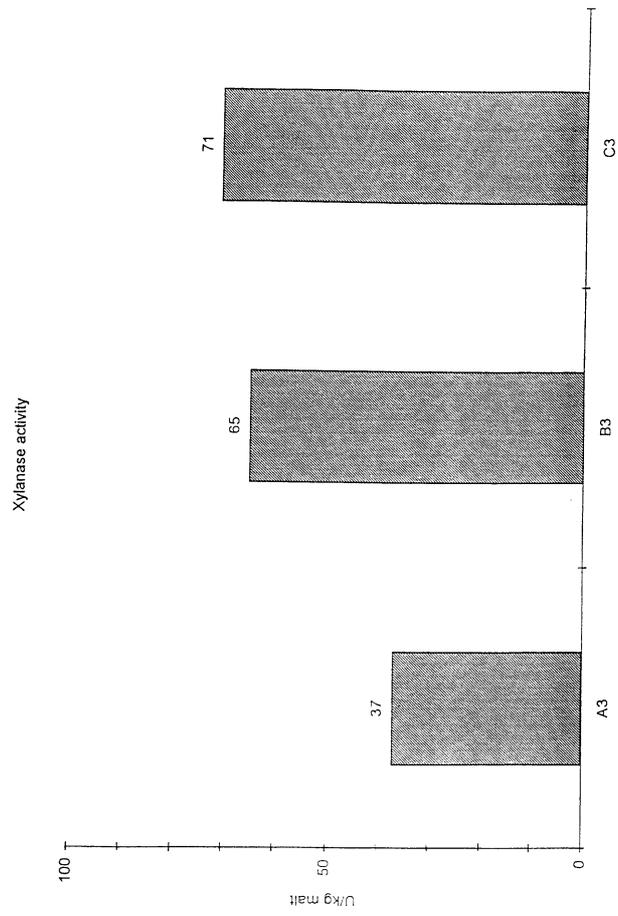
도면2



도면3



도면4



도면5

