

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 96194835.3

[45] 授权公告日 2001 年 10 月 3 日

[11] 授权公告号 CN 1072264C

[22] 申请日 1996. 5. 10

[21] 申请号 96194835.3

[30] 优先权

[32] 1995. 5. 16 [33] FR [31] 95/05765

[86] 国际申请 PCT/FR96/00713 1996. 5. 10

[87] 国际公布 WO96/36740 法 1996. 11. 21

[85] 进入国家阶段日期 1997. 12. 17

[73] 专利权人 科诺布格啤酒制造股份有限公司

地址 法国斯特拉斯堡

[72] 发明人 D·齐默尔曼 F·吉德尔 M·卡尔尼罗

[56] 参考文献

JP55064772 1989. 5. 15 A23L1/10

US2698275 1954. 12. 28 _

审查员 谢 妍

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事
务所

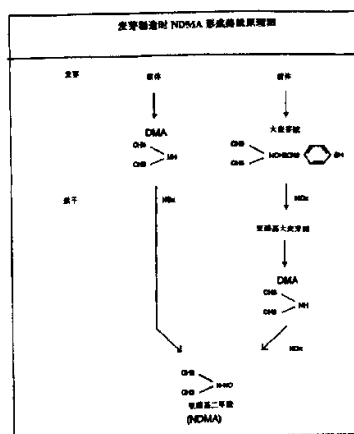
代理人 陈文平

权利要求书 1 页 说明书 20 页 附图页数 2 页

[54] 发明名称 大麦麦芽的制造方法和由此得到的改进的麦芽

[57] 摘要

本发明的目的是一种大麦麦芽的制造方法, 该方法包括浸泡阶段、发芽阶段和 烘干阶段。为了得到在烘干后麦芽中亚硝基二甲胺 (NDMA) 的低含量, 以及避免在烘干时加入硫, 在至少一个浸泡分步骤中, 将浸泡的大麦酸化到稳定的 pH 值为 3.5—4.6。使用的机制是降低生麦芽中的二甲胺 (DMA) 含量, 以限制随后在麦芽中产生亚硝胺。本发明也涉及改进了的麦芽, 它含有 81—82% 的提取物, 可溶性蛋白质的含量为 4—5%, 粘度为 1.4—1.5 mPas, 改变的均匀性 > 72%, NDMA 含量 < 1%, 以及 β -葡聚糖的含量 < 200 mg/L。



权 利 要 求 书

1. 包括浸泡阶段、发芽阶段和烘干阶段的大麦麦芽的制造方法，其特征在于，浸泡阶段包括 1-3 个在稳定后 pH3.5-4.6 间进行的酸浸泡分步骤，其中至少一个分步骤是在每 Kg 大麦 0.8-1.2L 浸泡水的比例下进行的。

2. 根据权利要求 1 的方法，其特征在于，所述稳定后的 pH 值等于 3.8-4.6。

3. 根据权利要求 2 的方法，其特征在于，该方法包括两个酸浸泡的分步骤，在第一个分步骤中，稳定后的 pH 值为 3.8-4.1，在第二个分步骤中，稳定后的 pH 值为 3.8-4.6。

4. 根据权利要求 1 的方法，其特征在于，所述比例为每 Kg 大麦 1L 浸泡水。

5. 根据权利要求 1 的方法，其特征在于，至少一个浸泡分步骤的时间为 4-6 小时。

6. 根据权利要求 1 的方法，其特征在于，在每个所述的浸泡分步骤中向浸泡水中加入酸。

7. 根据权利要求 1 的方法，其特征在于，该浸泡阶段包括三个分步骤，以及在第一和第二分步骤中，将酸加入到浸泡水中。

8. 根据权利要求 6 或 7 的方法，其特征在于，所述的酸化用盐酸进行。

9. 根据权利要求 6 或 7 的方法，其特征在于，所述的酸化用磷酸进行。

10. 根据权利要求 1 的方法，其特征在于，相对于标准的工业发芽来说，刺激发芽阶段，以将可溶性蛋白质的含量恢复到基本等于同样品种的大麦在不经酸浸泡而进行所述的标准发芽时得到的水平。

大麦麦芽的制造方法和由此得到的改进的麦芽

本发明的目标是一种大麦麦芽的制造方法，即包括浸湿、发芽和烘干步骤的方法，该方法能够得到低含量的亚硝基二甲胺（NDMA）。

在80年代，啤酒酿造者已注意到在啤酒中NDMA的存在，据推测这是一种对人致癌和致突变物质。NDMA存在在麦曲中，似乎来源于在麦芽制造的过程中大麦合成的仲胺和叔胺与环境空气中的氧化氮（ NO_x ）的反应。

按照一些作者的意见，不同种类的胺可能是NDMA的主要前体。

1986年，T. Wainwright等人，继众多的前人工作之后，在《啤酒酿造装置杂志》（JOURNAL INST. BREW）1986年，一月-二月号，92卷，61页的题名为《亚硝基胺的形成化学：与麦芽制造和啤酒酿造的关系》的综述文章中提出，大麦芽碱（对羟基苯乙替二甲胺）是NDMA的主要前体，二甲胺（DMA）、肌胺酸和芦竹碱类的其他胺类则起次要的作用。

1985年，M. M. Mangino & R. S. Scanlan在《农业食品化学杂志》（JOURNAL AGRIC. FOOD CHEM.）1985，33卷，705页上发表文章，题目是《生物碱大麦芽碱和芦竹碱的亚硝基化，大麦芽中亚硝基二甲胺的潜在前体》，该文证实了由于麦芽的芦竹碱很容易被空气中的 NO_x 亚硝基化，致使它在NDMA的形成中起重要作用。

最后，许多作者认为，麦芽NDMA的主要前体是二甲胺（DMA），这是一种在麦芽制造过程中在大麦的侧根中合成的仲胺。1981年在《基林啤酒酿造公司实验室研究报告》（Reports Res. Lab. Kirin Brewery Co.）1981，24卷，20页中出版的一篇S. Sakuma的著作，题目为《麦芽焙烤过程中形成N-亚硝基二甲胺》，该文指出，在麦芽中NDMA产物的数量和生麦芽中的DMA的数量以及空气中的 NO_x 的数量之间有着直接的关系。最近，L. J. Yoo在1992年的《农业食品化学杂志》，40卷，2224页中的题为《发芽大麦中的亚硝基二甲胺前体，二甲胺的测定》文章中，在对麦芽中测得的胺量和在亚硝化后NDMA的产量基础上确认，DMA是NDMA的主要前体，生麦芽中DMA的

浓度使得能推断出在大麦芽烘干中可能产生的NDMA的数量。同时,在该文章中和在此期间的B. Poocharoen等人的载于《农业食品化学杂志》, 40卷, 2220页的题为《发芽大麦中的亚硝基二甲胺前体, 大麦芽碱和芦竹碱的测定》文章中, 这些作者中的一些人十分怀疑在麦芽中产生NDMA时大麦芽碱和芦竹碱的作用, 根据最新的数据这提示NDMA的主要前体是在大麦发芽过程中在侧根中产生的二甲胺(DMA)。

目前, 通常以工业规模使用的减少NDMA含量的方法仍然基于在烘干过程中加入硫, 以及使用低NO₂含量的热空气或者是间接加热的烘干炉, W. Flad在载于《国际酿造》1989年11月号的题为《尽量减少在麦芽烘干过程中产生亚硝胺》的文章中说明了不同的方案。

然而, 这样的方法除了不能在任何情况下都给出满意的结果, 某些用此方法处理的工业批次的麦芽仍然含有不符合要求量的NDMA以外, 还要关注由于使用了硫, 当其燃烧时会产生二氧化硫排放的问题。在麦芽厂使用硫会由于环保标准的变严, 在中长的时期后再次出现问题。

另外, 在目前的认识状态下, 还没有一种在工业上可以使用的方法能够避免使用硫, 能够造成低的NDMA含量而不在得到的麦芽的质量和/或在所谓的清洁工业的应用方面和/或在产率方面表现出其它的重大缺点。

也还提出过某些方法, 这些方法在发芽后以及在即将烘干之前, 或者在烘干时加入一般是酸的化合物。

William J. Olson在发表于《MBAA技术季刊》(MBAA Technical Quarterly), 1982, 19卷, 2期, 63-67页中的题为《在直接烘干时, 不使用二氧化硫而控制N-亚硝基二甲胺》的文章中考虑在烘干之前加入磷酸和糖(葡萄糖或果糖), 这使得NDMA的含量达到2-3 μg/Kg的程度, 而加入H₂PO₃只能得到NDMA含量20-30 μg/Kg的麦芽, 只加入糖可以得到NDMA含量5-8 μg/Kg的麦芽。W. J. W. Lloyd 和 S. J. Hutchings在刊于EBC 1983年年会报告(55-62页)的一篇题为《消除麦芽中形成NDMA》的文章中表明, 这种方法会有不同的结果。最后, 在烘干前加入磷酸会在烘干时产生不好的气味, 这使得此方法在工业上应用很成问题。

在W. A. Hardwick等人在《规章性毒理学和药理学》(Regulatory Toxicology and Pharmacology)第2期, 38-66页(科学院出版社(Academic

Press Inc.) 1982年版) 中的题为《大麦饮料中的N-亚硝基二甲胺-啤酒酿造工业期待的行动》文章中描述了在即将烘干前酸化的另一种方法。该方法包括将麦粒表面酸化至pH值2.5 (54页) 以尽量减少NDMA的数量。这种现象包括“冻结”NDMA的潜在前体大麦芽碱。在此条件下它呈质子化形式, 对在NO_x存在下引起NDMA形成不敏感或敏感性低。由于P. A. Brookes在《啤酒酿造装置杂志》, 1982年, 88卷, 256-260页中的题为《亚硝基二甲胺对麦芽性能的影响》一文中阐述的原因, 即在工业规模使用时产生的操作和安全上的重大问题, 这种技术似乎还不能在工业上应用。

另一减少大麦芽碱数量的已知方法是降低发芽的速度。

按照先有技术, 在浸湿之后和发芽之前加入过硫酸铵或NO₂可以实现这种减速, 或者在浸湿时进行酸化可以限制芽的生长, 还可以通过选择条件(湿度、温度和发芽时间)来限制芽的生长。

在T. Wainwright 和 D. D. O Farrell刊于《啤酒酿造装置杂志》, 1986年, 5-6月号, 92卷, 232-238页的题为《麦芽制造中的过硫酸铵: 控制NDMA 和增加麦芽浸出液的产率》一文中, 考虑在制造麦芽时加入过硫酸铵或溴酸盐。此方法还没应用于工业规模, 它需要加入赤霉素。

在浸湿用水进行酸化以减缓萌芽的生长已知在T. Wainwright的如下三篇文章中:

《亚硝基二甲胺: 形成和减少的措施》刊于《啤酒酿造装置杂志》, 1981, 87卷, 264-265页;

《麦芽中的N-亚硝基二甲胺前体》刊于上述杂志, 71-80页;

《麦芽和啤酒中的亚硝胺》刊于上述杂志, 1986, 92卷, 73-80页。

由这些文章可以得出结论, 所有的做法, 特别是在浸湿时适当的酸化限制了萌芽的生长, 减少了主要在这些组织内形成的NDMA的潜在前体-大麦芽碱的数量大约10倍, 因而就减少了在最终麦芽中产生的NDMA的量。

但是, 这三篇文章中最新的一篇(《麦芽和啤酒中的亚硝胺》)表明(76页, 第1卷1, §3和4)考虑用于减少胚芽生长的所有处理方法, 对麦芽质量都有负面的影响, 不能直接使用于工业规模。

在文献中我们注意到, 一种还没有在工业上使用的方法是使萌芽钝化, 这是由如下的两篇文章提出的:

- G. H. Palmer等人的《在加速擦伤大麦发芽中结合酸化和赤霉酸处理》刊于《啤酒酿造装置杂志》，78卷（1972），81-83页；
- D. Crabb 和 G. M. Palmer的《不用胚芽生长制造麦芽的产量和酿造价值》刊于《ASBC会议论文集》（ASBC Proceedings），1972，36-38页。

这些文章都没有涉及到NDMA的问题，这只是由于他们出版的时间早于对由NDMA引起的问题的认识。这些文章的目的是杀死胚芽，为的是使其不长出侧根和造成提取物损失的胚芽。这个方法意味着要添加赤霉酸。必须使用破损的大麦是因为发芽大麦的种皮是不能被赤霉酸浸透的。

作为例子，第一篇文章给出，在第一次浸泡时向破损的大麦加入0.006N的硫酸；在第二次浸泡时加入0.01N，而在每次浸泡的末尾加入赤霉酸（0.5-0.1ppm）。其效果是钝化胚芽，减少侧根的长度（可达70%），由于消除了胚芽和侧根的生长，可增加可溶蛋白质的数量，刺激糊粉粒层和增加提取物的数量。

第二篇文章涉及借助于0.02%的酸（未规定种类）同时加入赤霉酸来破坏破损大麦的胚芽，以代替在正常发芽时产生的现象。

这些方法都需要有一个破损大麦的工序，加入赤霉酸除了导致增加可溶蛋白质的数量外，不再能产生其它的工业应用。

法国专利FR-1,360,637（Stauffer 化学公司）涉及在发芽的过程中减少侧根以提供更富活力和更漂亮麦芽的麦芽制造方法。该方法使用酸浸泡，按照1L浸泡水泡100g大麦，浸泡的初始pH值为1.7-2.4。浸泡用水和麦芽量的体积比要使得以后浸泡水的pH值长期等于初始pH值。大麦长时间地处于低pH值（<2.3），这导致发芽缓慢，这就带来了已经叙述过的缺点。

综上所述可以得出结论，目前还未知可以以工业规模实用的没有什么缺点的方法，可以在烘干时不用加硫而得到低NDMA含量的麦芽。

本发明的目的是解决这个问题，因此它涉及可以在工业规模上使用的、特别是可以得到具有低NDMA含量的麦芽的方法。

本发明的基本思想是，在浸泡时可以这样来控制酸化，使得完全不改变或很少改变发芽，但同时却对一种机制产生影响，使得在烘干后产生很少量的NDMA，而且在不影响麦芽质量的前提下，它既不使工业的应用复杂化，

也不会降低得率。

本发明的方法其特征在于，浸泡步骤包括至少一个酸浸泡的分步骤，该分步骤是在稳定后的pH值3.5 - 4.6下，在环境温度下进行的，选择浸泡水的体积与大麦量之比使得在其它条件不变时，发芽时麦粒的活性不明显改变。这使得注意到大麦的缓冲效果。

在这样的pH值之下，很少或根本不影响大麦发芽，而当比如pH值在稳定之后等于3时，会导致大麦的发芽有明显的改变，因此麦芽的质量也会改变。按照本发明得到的麦芽，在烘干后其NDMA含量很小，比如说少于2 μ g/Kg，优选少于1 μ g/Kg。

按照一种优选的实施方案，所述稳定化的pH值为3.8 - 4.6，优选的值为4.5。实际上，按照本发明，对于比如pH值等于3.5和等于4.5，所得到的结果实际上是相同的，因此更愿意在更高的pH值下工作，这相当于在同样体积的浸泡水中加入更少数量的酸。

这种酸可以是盐酸和/或磷酸。

所述浸泡水的体积和大麦量的比值以0.8 - 1.2L/Kg大麦为好，优选等于1L浸泡水/Kg大麦。

至少一个浸泡分步骤最好持续4 - 6小时。

在所有的情况下都可以观察到可溶性蛋白质的减少（Kolbach指数减小），但在使用磷酸的情况下，一个附加的优点是麦芽汁的粘度明显地减小，这主要是由于在麦芽中可溶性 β -葡聚糖的含量下降。我们将要注意到，在浸泡时如使用冷的磷酸，则气味问题和操作的困难就不再存在，而在上面曾经提到，在加入磷酸时，这些问题会在烘干时出现。

可以在浸泡阶段的每个分步骤中将酸加到浸泡水中。

按照一个优选的实施方案，浸泡阶段包括3个分步骤，在这些分步骤的第一步和第二步的过程中，将酸加到浸泡水中。

本发明还涉及对发芽进行明显的刺激所得到的麦芽，其特征在于，其提取液的干物质含量（MS）为81 - 82%，可溶蛋白质含量为4 - 5%，粘度为1.4 - 1.5mPas，变化的均匀度 $>72\%$ ，NDMA含量 $<10^{-9}$ ，而必要时可溶性 β -葡聚糖的含量 $<200\text{mg}$ 。

通过阅读下面的说明，结合附图将更好地理解本发明的其它特征和优点。图1表明文献中公布的在麦芽中形成NDMA的两种主要假说，在这种情况下，由发芽过程中产生的DMA形成NDMA，以及由在烘干的过程中由于大麦芽碱的相继亚硝基化和亚硝基大麦芽碱的亚硝基化形成NDMA。

图2是按照本发明和按照法国专利FR-1, 360, 637在浸泡过程中pH值的变化对比图。

图3表明按照试验II的试验8和9，试验麦芽和对照麦芽的可过滤性对比图。

表1和表2表示下面试验I的结果。

表3和表4表示下面试验II的结果，表4说明在酸浸泡后对发芽进行明显的刺激对麦芽质量的影响。

表5表示下面试验III的结果。

本发明在小型麦芽厂或在工业规模进行了一系列试验。

试验I: 比较HCl/H₃PO₄

大麦品种:

以小型麦芽厂的规模试验3个Brassicole品种。三种都是春天的品种 (Alexis、Vodka和Nomad)。

小型麦芽制造的程序:

浸泡:

在13℃下储藏的大麦相继进行3次浸泡，中间插入两次麦种的通风。

第一次浸泡	6小时	13℃
第一次通风	14小时	25℃
第二次浸泡	5小时	14℃
第二次通风	13小时	20℃
第三次浸泡	2小时	16℃

为了进行酸浸泡试验，在第二次浸泡时加入盐酸(HCl)和磷酸(H₃PO₄):

HCl (37%) 试验	PH值4.5	在稳定化之后
HCl (37%) 试验	PH值3.5	在稳定化之后
H ₃ PO ₄ (85%) 试验	PH值4.5	在稳定化之后

H₃PO₄ (85%) 试验 PH值3.5 在稳定化之后
以每Kg大麦大约1L的比例进行浸泡试验。

发芽:

此阶段持续96小时，可以分成3个不同的分阶段:

第一分阶段	14小时	20℃
第二分阶段	2小时	18℃
第三分阶段	80小时	16℃

烘干:

通过逐渐升高温度的方法，在小型麦芽厂将发芽的大麦干燥。

第一阶段	3小时	62℃
第二阶段	2小时	65℃
第三阶段	2小时	68℃
第四阶段	2小时	73℃
第五阶段	1小时	78℃
第六阶段	2小时	80℃
第七阶段	6小时	83℃

在烘干以后和储藏麦芽之前，通过机械冲击分离掉侧根。

在工业规模烘干:

在小型麦芽厂获得部分Alexis种生麦芽，并在工业规模干燥，不焚烧硫(SO₂)使之有利于由存在于生麦芽中的前体形成NDMA。

借助于低NO_x含量的直接加热在两块圆形板上烘干此生麦芽。

第一步是在烘干上板上烘20小时。初始温度55℃，在此期间升温至68-70℃，这样使麦粒湿度由42%降为10%。

第二步是在下板上进行的，包括3段。逐渐升温在12小时内升至75℃，然后在4小时内升至80℃，再经过4小时通风将麦粒冷却。在此第二步，落下的麦粒的湿度由10%降到4%。

麦芽分析:

经典的参数:

用在Analytica-EBC中叙述的方法，测量麦芽质量的基本参数（提取物含量、粘度、Kolbach指数、糖化力、pH值、可溶性 β -葡聚糖含量）。以此方式分析了在小型麦芽厂干燥的麦芽。

亚硝基二甲胺（NDMA）含量：

测量在工业烘干阶段干燥的和分离侧根以后的NDMA 含量。

将15g麦芽在50℃的100ml蒸馏水中中度搅拌1小时进行抽提得到NDMA。在“Chemelut”型管中用二氯甲烷萃取后，萃取液对二氯甲烷浓缩到0.5ml，取10 μ l注射到CPG/TEA系统（热能分析仪）中。

通过与含有NDMA数量逐步增加的麦芽试样标度进行比较测量出NDMA的含量。

在进行分析时，亚硝基二丙胺（NDPA）是作为内标而加入的。

结果：

麦芽的NDMA含量（表1）

不管使用什么酸（HCl或H₃PO₄）以及酸性如何，生麦芽（Alexis）烘干时产生的NDMA含量少于未处理的对照的含量：最终麦芽中NDMA值要低2倍以上。

可溶性蛋白质含量（表2）

各实验的可溶性蛋白质含量（Kolbach指数）比对照的值小，且与使用的大麦品种、使用的酸的pH值无关。

可溶性 β -葡聚糖含量（表2）

浸泡水的酸化导致麦芽的 β -葡聚糖含量减少。当使用磷酸时，此现象特别突出，随品种不同，可使可溶性 β -葡聚糖的含量减少15-50%。

粘度（表2）

在使用磷酸的所有情况下，粘度的下降都是明显的。

汁液的pH值（表2）

在麦芽制造时进行酸化使由麦芽得到的汁液的pH值有小幅度下降（0.1-0.2个pH点）。

糖化力（表2）

糖化力受到酸的种类和酸度的影响，但并不一定是一般的规律，因为这个现象视品种不同而很有不同。

分析麦芽质量的其它指标仍然全部不变。

结论

此项研究表明, 通过将浸泡水酸化来减少NDMA的产生并不限于使用盐酸(HCl), 在浸泡时使用磷酸(H_3PO_4)使得在最终麦芽中的NDMA含量有相同程度地降低。

另一方面, 进行更强的酸化(稳定的pH值为3.5)与稳定地将浸泡水的稳定后pH值调节到4.5相比, 并未带来什么好处。

考虑到麦芽质量的其它因素, 我们的研究证实, 在浸泡时使用磷酸或盐酸对麦芽的全面质量有积极的影响。首先, 我们将注意到麦芽的可溶性蛋白质含量(Kolbach指数)减少。

其次, 在这些实验中, 麦芽中的可溶性 β -葡聚糖含量和粘度都明显下降。

浸泡水酸化也会影响到汁液的pH值和糖化力值。

上述的发现使得本方法与力图得到与对照相同的可溶性蛋白质含量(Kolbach指数)的发芽方法相差更远。后者应该导致麦芽的提取物的增加, 使啤酒制造车间中得到高的收率。在此情况下, 麦芽的其它参数保持不变。

表1

样品	麦芽的NDMA含量 10^{-9}
对照	1.8
试验	
HCl, pH值4.5	0.7
HCl, , pH值3.5	0.8
H_3PO_4 , pH值4.5	0.7
H_3PO_4 , pH值3.5	0.8

表2

品种	参数	单位	对照	HC1 pH4.5	HC1 pH3.5	H3P04 pH4.5	H3P04 pH3.5
Alexis	湿度	%	4.5	4.4	4.3	4.2	4.2
	提取物	%MS	81.1	81.1	81.6	81.4	81.6
	总蛋白质	%MS	11.7	12	11.9	12.3	11.7
	可溶蛋白	%	4.6	4.1	4	4.3	4.2
	Kolbach指数	%	39.3	34.2	33.6	35	35.9
	粘度	Mpa*s	1.63	nd	nd	1.49	1.53
	可溶β-葡聚糖	Mg/l	357	358	333	249	nd
	pH值		5.89	5.69	5.82	5.75	5.81
	糖化力 (P.D.)	WK	308	297	286	350	286
Nomad	湿度	%	4.4	4	4.4	4	4.1
	提取物	%MS	82.5	82.5	82.4	83	82.7
	总蛋白质	%MS	9.8	9.9	10	9.8	9.9
	可溶蛋白	%	3.9	3.6	3.6	3.7	3.8
	Kolbach指数	%	39.8	36.4	36	37.8	38.4
	粘度	Mpa*s	1.69	nd	nd	1.61	1.65
	可溶β-葡聚糖	Mg/l	366	378	328	318	nd
	pH值		6.01	5.8	5.9	5.88	5.9
	糖化力 (P.D.)	WK	140	96	97	96	82
Vodka	湿度	%	4.5	4.4	4.8	4.2	4.3
	提取物	%MS	81.4	81.6	81.8	81.8	81.9
	总蛋白质	%MS	10.4	10.6	10.5	11	10.6
	可溶蛋白	%	4.4	3.6	3.7	3.6	3.9
	Kolbach指数	%	42.3	34	35.2	32.7	36.8
	粘度	Mpa*s	1.61	1.61	1.55	1.51	1.59
	可溶β-葡聚糖	Mg/l	405	380	230	192	nd
	pH值		5.96	5.85	5.89	5.86	5.85
	糖化力 (P.D.)	WK	286	200	176	261	197

nd: 未能测定

试验II

大麦品种:

以工业规模(200吨麦芽)试验四种Brassicole品种(试验1至5)。两种是春麦品种(Prisma和Alexis);两种是冬麦品种(Clarine和Plaisant)。

麦芽制造程序:

浸泡:

在13℃下储藏的大麦相继进行3次浸泡,中间插入两次麦种的通风。

在240吨大麦中加入250m³冷却至12℃的浸泡水。6小时以后排出第一次浸泡的水,并用20℃的空气将麦粒通风11小时。在此阶段,麦粒的湿度为26-28%。

第二次浸泡使用同样数量的水,再在16℃下通风8小时。在此阶段,麦粒的湿度为35-37%。

最后一次浸泡相当于在水下2小时,然后在16℃下通气3-4小时。

在浸泡的最后阶段,麦粒的湿度达到约40-42%。

为了进行试验(酸浸泡),盐酸从储槽中用泵打出,与水混合后送入浸泡槽中。

发芽:

这一步在堆积在“麦芽制造塔”型的竖直装置上的圆形格子上进行5天,麦粒每8小时翻动一次,以保持发芽均匀。

在发芽开始时,在浸泡好的麦粒上浇水,使麦粒的湿度达到43%,进入的空气温度控制为15℃。

烘干:

发了芽的大麦(生麦芽)被装在发芽格子上去烘干,在这里,在两块圆形板上用低NO_x含量直接加热的方法将生麦芽干燥。

第一步在上烘干板上进行20小时,初始温度为55℃,在此期间升温至68-70℃。这样使麦粒的湿度由42%降为10%。

第二步在下烘干板上进行,分为3个阶段。开始在12小时内温度逐渐升至75℃,再在4小时内加热到80℃,然后在麦粒的冷却阶段,通风4小时。在此第二步,麦粒的湿度由10%降为4%。

在每个实验平行进行的对照组试验中,在烘干时焚烧75Kg的硫。

在烘干麦芽以后和储藏以前,通过机械冲击分离侧根,在分离侧根后进行NDMA的定量。

亚硝基二甲胺定量:

通过在适中的搅拌下,在100ml的50℃蒸馏水中抽提15g麦芽1小时来得到NDMA。在“Chemelut”型管中用二氯甲烷萃取后,将萃取液对二氯甲烷浓缩到0.5ml,将10 μ l注射到CPG/TEA系统(热能分析仪)中。

通过与含有NDMA量逐步增加的麦芽试样标度进行比较测量出NDMA的含量。

在进行分析时,亚硝基二丙胺(NDPA)是作为内标而加入的。

结果:

将在小型麦芽厂规模进行的观察(试验I)扩展到工业规模(200吨):在浸泡水中使用酸可以得到低硝基胺含量的麦芽,而麦芽质量与用硫处理的对照组相同(见表3)。

对于不同大麦质量(冬麦/春麦)的工业试验,都验证了这一结果。

在不同次的浸泡使用不同的剂量表明,在前两次浸泡中用酸就足够了,就体积而言,在浸泡水中加入大约500L酸就能够达到目的。

在这样酸的体积下,每Kg大麦用大约1L浸泡水,在使pH值均匀化和平衡之后,水的pH值在第一次浸泡时为3.8-4.1;第二次浸泡为3.8-4.6。

用小剂量酸进行的试验(表3的试验4)表明,在烘干不用硫时,在浸泡时需要很少量的酸。在这样剂量的酸的情况下,第一次浸泡和第二次浸泡的平衡pH值分别为5.1和4.8。

与“亚硝胺”参数同时,还观察了麦芽质量的另一些参数,即在试验和

对照试验之间不同的某些值（见表3）。

首先，在各个试验中与对照试样相比，亚硫酸酐的含量是很小的，这是由于在这些试验中，在烘干的过程中没有使用硫。

其次，在本试验的情况下， β -葡聚糖酶的活性水平也总是大于或等于400IRVU，而在某些对照试验中这大约为300IRVU。这个数字给我们一个印象，那就是在传统的麦芽制造条件下，麦粒不能充分发挥其潜力，而酸给水解酶的产生“注入了兴奋剂”。

与此同时，在试验的情况下，我们能看到Kolbach指数减小，这是由于可溶性蛋白质的数量更少所致。

最后，在某些情况下，我们看到试验的麦芽汁粘度下降。

其他有关麦芽质量的指标完全保持不变。

由于在工业试验的情况下确认了试验组可溶性蛋白质的含量减少，我们希望在试验II的范围内证实，可能通过显著地刺激试验组的发芽来恢复可溶性蛋白质的含量。

为此我们进行了两种方式的试验（在表4中表示的试验6-9）。方式1（试验6和7）是在试验中发芽初期加入赤霉酸（30mg/T）。方式2（试验8和9）是将在空气下的浸泡试验的最后一段时间延长5小时。在后一种情况下（方式2），在发芽的4和5天我们观察了麦芽的特性。在这两种方式下，加入酸的数量相当于试验3中使用的量（400和150L）。结果列在表4中。

这些补充试验的结果证实了前面提到的想法，就是在发芽期进行明显的刺激而使可溶性蛋白质的量恢复时，麦芽的提取物明显地增加。根据试验，这个增加量在提取物的0.4-1.3个点之间。

我们还证实，粘度比在前面试验所观察的有更显著的下降。在粘度上的这个差别是基于，由于表达的溶细胞活性升高，使细胞壁的组分发生更好的降解。比如，由于在这些麦芽中表达了比对照麦芽更多的内切纤维素酶和葡聚糖酶，从而减少了试验麦芽的可溶性 β -葡聚糖含量。

这种特点在Grandclerc, J. 等人1988年在法语杂志《BIOS》No19, 88-92页上出版的《TEPRAL 啤酒槽的简化过滤方法，说明和方法》一文中所叙述的啤酒槽内的汁液过滤质量有很大的影响。当我们将试验8和9的Iranis试验麦芽的50/50混合物与试验8和9的对照麦芽的50/50混合物进行比较

时，可以观察到过滤行为上的明显差别。在图3试验的前300秒（第一期）过滤靠重力进行，在 $T=300s$ 的末尾时，过滤在1Bar的压力下进行。图3表明，在试验的混合物情况下，特别是在第二阶段，比对照组麦芽的混合物，过滤速度有了明显的改善。

与此同时，我们在所有的情况下都观察到麦芽的改变具有更好的均匀性。最后，基于这种麦芽制造方法的麦芽质量性能，通过观察（试验8）发芽4天所得到的麦芽就能得到很好的说明。采用酸浸泡，在发芽4天之后可以得到与在标准麦芽制造条件下5天所产生的相同质量的麦芽。

另外，基于酸浸泡的生理变化能够限制麦粒的呼吸，这导致麦芽收率大约1%的改善。

结论:

本研究的目的达到了：在工业规模下，在浸泡时使用酸可以在烘干时不用硫就能限制亚硝胺的产生。

在此条件下得到的麦芽，在所有情况下质量上都符合二氧化硫含量更少， β -葡聚糖酶的活性高且稳定这些特点。

在某些情况下，这些麦芽也具有Kolbach指数和粘度都更小的特点。

在通过明显地刺激发芽来恢复可溶性蛋白质含量的试验中，我们已经看到，相对于对照组，在控制NDMA的同时，采取了一些条件使麦芽的提取物数量明显增加，可溶性 β -葡聚糖以及相应的汁液粘度大为减少。对于可溶性蛋白质的含量与在对照组中测量的数据相同这一点的观察证实，本申请的麦芽制造方法不仅控制了产生的NDMA含量，而且以更好的全面质量制造了麦芽。

浸泡水体积和处理的大麦体积之间关系的影响:

图2表明在浸泡的前6小时中pH值曲线的变化。试验“Stauffer A”和“Stauffer B”相当于专利FR-1,360,637（第二页，左栏）的极端条件，也就是说，试验A的浸泡水含酸0.1%，试验B的浸泡水含酸1%；在这两种情况下，每1体积大麦用10体积水（即100g大麦用1L浸泡水）。按照本发明的试验相当于浸泡水含有0.2%的酸，即对于200吨大麦的试验，用200吨水加400升酸。

在图2中给出在浸泡过程中的pH值, 这相当于下表:

时间 (h)	Stauffer A	Stauffer B	试验	对照组
0.25	2.3	1.3	2.67	7.4
0.5	2.28	1.3	3.15	7.45
0.75	2.35	1.31	3.4	7.45
1	2.37	1.23	3.6	7.5
1.5	2.39	1.23	3.72	7.4
2	2.4	1.24	3.8	7.5
2.5	2.4	1.25	3.85	7.45
3	2.4	1.23	3.88	7.45
3.5	2.42	1.23	3.92	7.5
4	2.41	1.25	3.95	7.45
4.5	2.42	1.26	3.96	7.4
5	2.44	1.22	3.98	7.4
6	2.45	1.22	4.05	7.4

在试验Stauffer A和Stauffer B中, 正是加入了酸的水决定了其pH值。在浸泡的前6小时, pH值仍然低于2.5和1.3。在试验TEPRAL中, 开始的pH值等于2.67, 但在1小时后它变成大约等于3.5。在第6小时末, 它达到最终值4.05。因此我们看到, 在该试验所选择的水体积/麦粒重量比值的条件下, 由大麦产生了重要的缓冲作用, 这样能保证麦粒不在太低的pH值里保持太长的时间。这样就避免干扰发芽时的麦粒生理活动。在浸泡分步骤的大部分时间里, pH值的变化都不大。

表3: 酸性浸泡对麦芽全面质量的影响

参数	试 验 1 Prisma	试 验 2 Alexis	试 验 3 Alexis	试 验 4 Clarine	试 验 5 Plaisant
----	-----------------	-----------------	-----------------	------------------	-------------------

	单位	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T
盐酸体积											
V1	升	250	0	350	0	400	0	250	0	400	0
V2	升	250	0	170	0	150	0	125	0	150	0
V3	升	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0
麦芽分析											
提取物	% MS	81.4	81.3	82.5	83.1	82.1	82.9	80.3	79.6	80.2	79.8
Kolbach	%	37.8	40.2	34.7	38.6	37.2	38.3	30.3	30.9	37.2	43.4
可溶蛋白质	%	4.2	4.3	3.4	3.6	3.5	3.6	3.3	3.4	4.1	4.9
Hortong 45	%	38.0	33.0	36.5	34.0	35.0	38.0	28.5	26.0	34.0	41.0
P. D.	WK	220	200	200	190	250	250	180	190	330	350
粘度	mPas	1.46	1.46	1.59	1.65	1.51	1.58	1.58	1.60	1.51	1.52
NDMA	ppb (10 ⁻⁹)	0.5	0.5	0.5	0.8	0.9	0.5	1.7	0.8	1.4	1.2
二氧化硫	ppm (10 ⁻⁶)	7.0	27.0	6.0	10.0	3.0	22.0	3.0	7.0	2.0	32.0
可溶β-葡聚糖	mg/l	44	85	80	45	140	160	493	550	130	140
β-葡聚糖酶	IRVU	480	300	400	330	420	400	400	300	440	430

E: 试验; T: 对照组

表4: 酸浸泡后在发芽时进行明显的刺激对麦芽质量的影响

参数	试 验 6	试 验 7	试 验 8	试 验 9
麦芽制造条件	Prisma	Prisma	Iranis	Iranis
	赤霉酸+30	赤霉酸+30	4天	5天

	单位	E	T	E	T	E	T	E	T
麦芽分析									
提取物	% MS	80.9	80.4	80.8	80.4	80.4	79.9	81.9	80.6
均匀性	%	72	65	75	65	84	57.0	84	77
可溶性蛋白	%	4.6	4.4	4.3	4.4	4.9	4.9	5.0	5.0
Hartong 45	%	38.1	35.8	36.1	35.8	43.2	42.2	46.1	42.9
. P. D.	WK	270	260	230	260	300	290	290	310
粘度	m Pas	1.50	1.59	1.49	1.59	1.46	1.52	1.46	1.50
NDMA	ppb	1.6	0.9	1.2	0.9	0.2	0.2	0.1	0.2
	(10 ⁻⁹)								
可溶 β - 葡聚糖	mg/l	195	240	190	240	100	180	70	130
β - 葡聚糖酶	U/kg	nd	nd	nd	nd	357	286	411	355
内切纤维素酶	mU/g	nd	nd	nd	nd	499	332	591	415

E: 试验; T: 对照组

试验III: 酸对NDMA含量的作用机制

大麦品种:

在表3试验3的工业试验 (Alexis) 和在表2的小型麦芽厂Vodka和Nomad的情况下, 在发芽期的末尾和烘干之前 (生麦芽) 提取发芽大麦的试样。在每种的情况下, 同时得到不处理的对照组生麦芽和酸处理出来的麦芽。

麦芽制造程序:

这些试样的麦芽制造条件汇总于前面叙述的试验I和试验II的叙述当中。

生麦芽分析:

对生麦芽分析了许多NDMA的潜在前体:

-大麦芽碱和芦竹碱。按照1981年P. T. Slack和T. Wainwright在《啤酒酿造装置杂志》, 87卷, 260页上题目为《大麦芽碱是麦芽中NDMA的前体》一文中公布的方法。

-在类似于大麦芽碱的条件下抽提肌氨酸, 用氟代二硝基苯(FDNB)酯化, 并用高效液相色谱分析。

-用甲醇抽提二甲胺(DMA), 用氟代二硝基苯(FDNB)制成衍生物, 再用1991年8月在《德国工程师协会杂志》(Verein Deutscher Ingenieure)上题为《用高效液相色谱测定脂肪族胺》的文章中公布的方法, 用高效液相色谱分析。

按照在试验I中叙述的方法测定生麦芽中的NDMA含量。

另外, 用肉眼观察的方法研究生麦芽, 估计酸对侧根和胚芽生长的影响。这些组织大多数参与了NDMA前体胺的产生。

结果:

烘干前的生麦芽中测量的仲胺(DMA、肌氨酸)和叔胺(大麦芽碱、芦竹碱)的浓度用干重的十亿分之一(ppb)表示, 列在表5中。

这些数字表明, 芦竹碱和肌氨酸在生麦芽中的含量很少, 只有大麦芽碱和二甲胺以可以测到的量存在。在工业制造麦芽的情况下, 这两种胺的浓度分别比分析的两个小型麦芽厂制造的平均值大2-10倍。

至于生麦芽的大麦芽碱浓度, 注意到在酸处理试验的试样中, 在小型麦芽厂的情况下, 发芽过程中产生的大麦芽碱的数量比对照组低50-100%, 而在工业规模的麦芽(Alexis)中, 该对照组试样和酸处理试样产生的大麦芽碱处于同样水平。

对于DMA, 在小型麦芽厂和工业规模的数据与前面相比, 两者之间更为一致。在所有的情况下, 酸浸泡的试样中DMA的浓度只为对照组的大约1/4。在Nomade试验中, 测量的数值表明, 酸浸泡试验的生麦芽中DMA的数量为在对照组测量的1/10。

在浸泡时使用酸对发芽过程中形成的NDMA的数量没有明显的影响, 对在

麦粒发芽过程中产生的侧根和胚芽的长度也没有明显的影响。

表5: 生麦芽中NDMA的前体浓度

单位: 干重量的ppb

胺	Vodka (小型麦芽厂规模)		Nomad (小型麦芽厂规模)		Alexis (工业规模试验)	
	对照组	酸浸泡	对照组	酸浸泡	对照组	酸浸泡
肌氨酸	<10	<10	<10	<10	<10	<10
DMA	124	34	493	46	3400	800
大麦芽碱	36 000	18 000	35 000	27 000	71 000	75 000
芦竹碱	<10	<10	<10	<10	<10	<10
NDMA	<0.3	0.5	0.3	0.3	0.3	0.2

结论:

此项研究证实了在浸泡时使用酸对在发芽末期麦粒中存在的NDMA前体的数量的重要作用。

在此研究中测量到的胺的数值表明,在浸泡时加酸可重复地明显地减少了生麦芽中存在的DMA的数量。

因此,被看作是NDMA主要的前体的这种仲胺的含量减少,会很有逻辑地减少在烘干过程中由NO_x引发亚硝基化时产生的NDMA量。这使得在麦芽制造的这一最后步骤中不用硫而保持对NDMA的要求标准。

酸对生麦芽的大麦芽碱含量的影响不太明显,一次试验和另一次试验也不大重复,这表明酸化浸泡水降低NDMA含量主要是基于用此麦芽制造方法制造的生麦芽的DMA减少。

酸的这种作用机制有别于基于降低组织(胚芽、侧根)生长和大麦芽碱数量减少的机制,此机制引自Wainwright等人在《啤酒酿造装置杂志》,1986年,92卷,76页上的《麦芽和啤酒中的亚硝胺》一文。按照我们的条件在浸泡时加入酸对在麦芽制造过程中长出的侧根和胚芽长度和产生的大麦芽碱的数量没有明显的影响。

与此同时,旨在恢复试验中稍为减少的蛋白质含量的麦芽制造补充试验

使我们得出结论，浸泡麦粒时的酸化引起的生理变化会导致获得质量好于对照组的麦芽。采用酸浸泡结合在发芽时对麦粒进行明显的刺激一方面能在控制产生的可溶性蛋白质含量的同时产生高提取物含量、低粘度的麦芽，另一方面采用此条件也能在4天的发芽时间里生产出其质量与在标准条件下发芽5天所得到的相同的麦芽。

最后，采用此方法和由此方法产生的生理现象导致增大了麦芽厂的收率。

说明书附图

麦芽制造时 NDMA 形成路线原理图

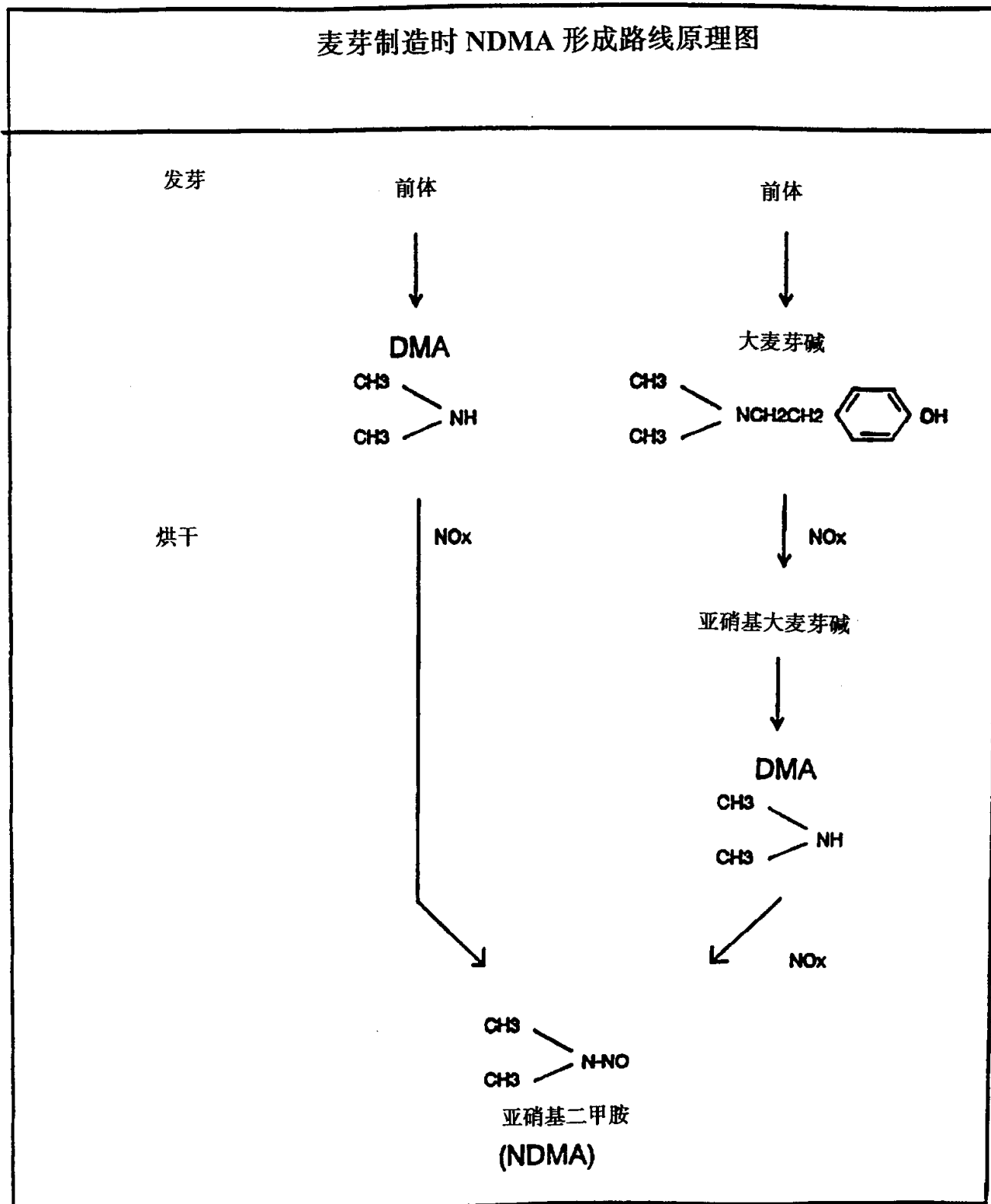


图 1

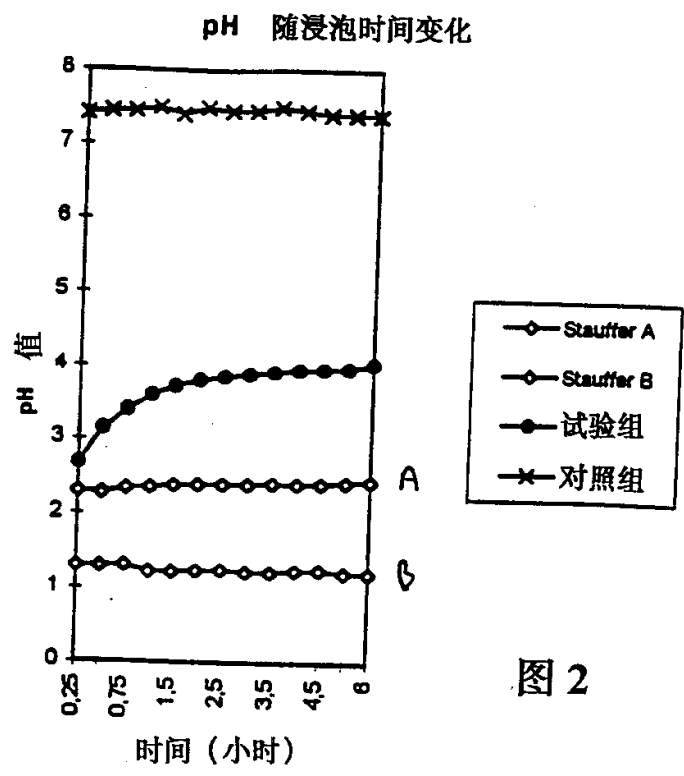


图 2

试验麦芽及对照组过滤比较

(试验 8 & 9)

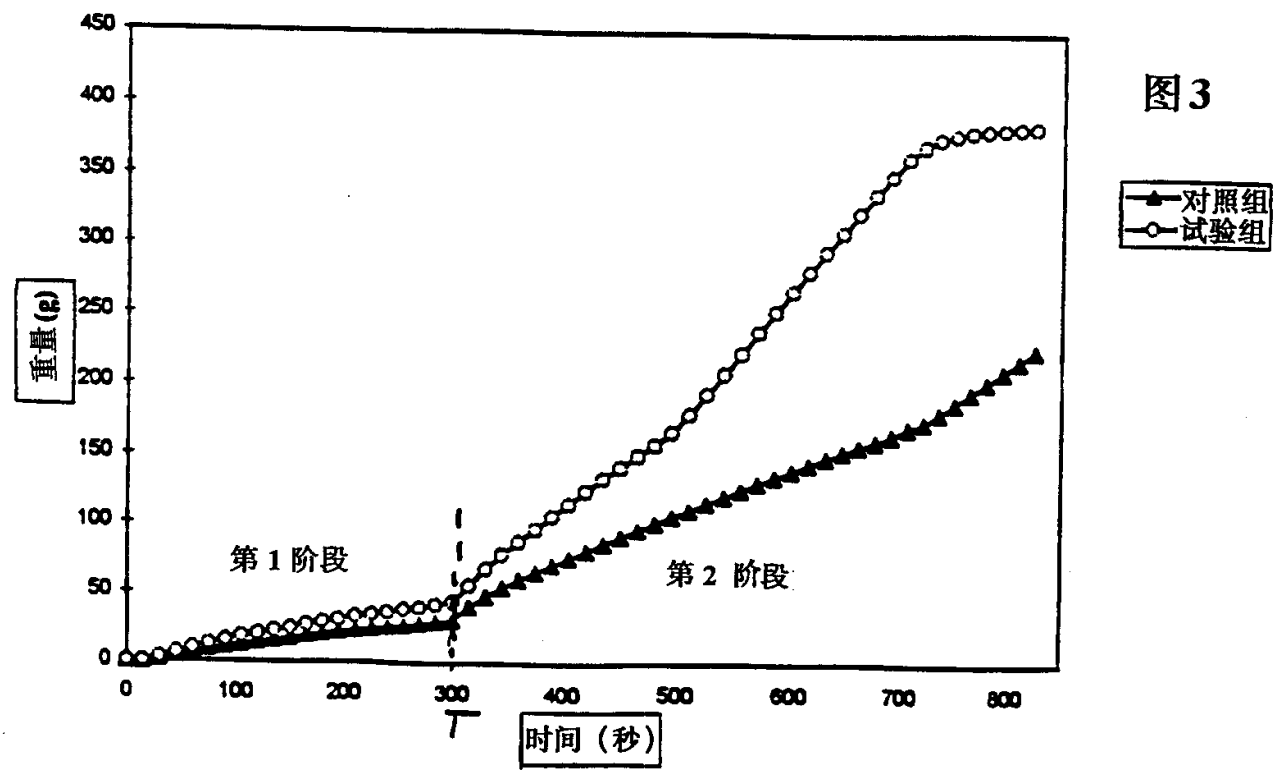


图 3