



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 697 31 095 T2 2006.03.09

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 0 918 844 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 697 31 095.7

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/BE97/00086

(96) Europäisches Aktenzeichen: 97 932 669.1

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 98/003627

(86) PCT-Anmeldetag: 23.07.1997

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: 29.01.1998

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 02.06.1999

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 06.10.2004

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 09.03.2006

(51) Int Cl.⁸: C12C 1/00 (2006.01)

C12N 1/14 (2006.01)

C12N 1/20 (2006.01)

C12C 1/18 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

PCT/BE96/00077 23.07.1996 WO

(73) Patentinhaber:

Cargill France N.V. doing business as Cargill Malt
Division N.V., Herent, BE

(74) Vertreter:

Office Van Malderen Patent- und Markenanwälte,
Brüssel, BE

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, NL, PT,
SE

(72) Erfinder:

COPPENS, Theo, B-3120 Tremolo, BE; DELCOUR,
Jan, B-3001 Heverlee, BE; ISERENTANT, Dirk,
B-3018 Wijgmaal, BE

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON MALZGETREIDE

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Gebiet der Erfindung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein verbessertes Verfahren zur Herstellung von gemälztem Getreide.

Technischer Hintergrund der Erfindung

[0002] Getreide wie beispielsweise Gerste, Weizen, Roggen, Mais, Hafer, Reis, Hirse, Triticale und Sorghum wird zur Herstellung von Getränken verwendet. In den meisten Fällen wird es zuvor einem Mälzprozess unterzogen, um sein erhöhtes enzymatisches Potenzial auszunutzen.

[0003] Bei klassischen Mälzverfahren wird der Feuchtigkeitsgehalt von Getreide entweder durch Immersion(en) und/oder Sprühen erhöht, und das resultierende Getreide mit hohem Feuchtigkeitsgehalt kann dann keimen. Nachdem es den richtigen physiologischen Zustand erreicht hat, wird es vorzugsweise einem (a) Trocknungsschritt bzw. Trocknungsschritten unterzogen. Im Folgenden bezieht sich der Begriff „Einweichen“ auf die Erhöhung des Feuchtigkeitsgehalts, während der Begriff „Keimung“ in derselben Weise verwendet wird, wie in der Pflanzenphysiologie. Die Trocknungsvorgänge werden als „Darren“ bezeichnet und der Begriff „Mälzen“ umfasst alle Vorgänge, die erforderlich sind, um Gerste (oder anderes Getreide) in Gerstenmalz (oder anderes Getreidemalz) umzuwandeln.

[0004] Die Qualität des erhaltenden Malzes wird weitgehend von dem Vorhandensein endogener Pflanzenenzyme bestimmt, die während des Mälzvorgangs erzeugt werden. Wenn beispielsweise Getreide wie Gerste als Rohmaterial für die Malzherstellung verwendet wird, beeinflussen die Art, die Zusammensetzung der mikrobiellen Flora und die Umgebungsfaktoren, wie beispielsweise die Ackerbaupraxis, die Qualität des Malzes. Während des Anbaus und der Lagerung ist Getreide durch Bakterien und Pilze kontaminiert. In der Mälzanlage sind weder die Luft, noch das Wasser oder die Ausrüstung steril, und die Bedingungen der Feuchtigkeit, des pH-Wertes und der Temperatur begünstigen das Wachstum der mikrobiellen Populationen.

[0005] Die unterschiedliche Getreidequalität und der Mangel an Mittel zum Ausgleich der Mängel während des Mälzprozesses führen zu Unterschieden in der Malzqualität. In vielen Fällen hängt dies mit einem Ungleichgewicht des spezifischen, enzymatischen Potenzials und einem unzureichenden Abbau der Zellwand zusammen. Davon abgesehen können Probleme mit der mikrobiellen Sicherheit auftreten. Als Folge der minderen Malzqualität treten Qualitätsprobleme bei der Bierherstellung auf, beispielsweise schlechte Filtrierung der Würze.

Stand der Technik

[0006] Beim Mälzen von Gerste entwickelt sich die Mikroflora, und die Qualität des Malzes und der Getränke wird durch die Aktivität der endogenen Mikroorganismen beeinflusst.

[0007] Analog zu anderen biotechnologischen Verfahren gab es Versuche zur Optimierung der Aspekte der Malzqualität durch Zugabe von Starterkulturen während des Mälzvorgangs (Biovin, P. & malanda, M., Influence of Starter Cultures in Malting on the Microflora Development and Malt Quality, EBC, Proceedings of the 24th Congress, S. 95–102 (1993); Haikara, A., et al., Lactic Starter Cultures in Malting – A Novel Solution to Gushing Problems, EBC, Proceedings of the 24th Congress, S. 163–172 (1993)).

[0008] Zugabe von Sporen von Geotrichum candidum zu dem Einweichwasser führt zur Hemmung der Entwicklung unerwünschter Mikroorganismen und zu einer Abnahme der Filtrationsdauer der aus dem erhaltenen Malz hergestellten Würze. Behandlung mit Geotrichum candidum hemmt auch die Bildung von Mykotoxinen durch Fusarium spp.

[0009] Es wurde der Einfluss von Lactobacillus plantarum und Pediococcus pentosaceus auf die Mikroflora während des Mälzens getestet, und es stellte sich heraus, dass diese Kulturen als natürliche Konservierungsmittel wirken, da sie das Wachstum von Fusarium beschränken und Herausströmen (Gushing) verhindern.

[0010] Die internationale Patentanmeldung WO 94/29430 beschreibt ein Verfahren zum Verbessern der Eigenschaften gemälzten Getreides, bei dem Starterkulturen, die Pilze, Hefen oder Bakterien umfassen, vor und/oder während des Mälzens des Getreides zugegeben werden.

[0011] Die bevorzugten, verwendeten Bakterien sind Milchsäure produzierende Bakterien, wie beispielsweise verschiedene Lactobacilli, z. B. Lactobacillus casei, Lactobacillus casei var. rhamnosus, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus plantarum und Lactobacillus brevis und Bakterien der Gattung Pediococcus, z. B. Pediococcus acidilactici.

[0012] Bevorzugte Pilze sind Pilze der Gattung Aspergillus und Geotrichum, wie beispielsweise Geotrichum candidum.

[0013] Die internationale Patentanmeldung WO 94/16053 beschreibt ein Verfahren zum Behandeln von Getreide zum Hemmen des Wachstums unerwünschter Mikrobenarten durch Animpfen des Getreides während des Keimungsvorgangs mit einer Zubereitung von Milchsäurebakterien oder einer Zubereitung, die von Milchsäurebakterien hergestellt ist. Die bevorzugten Bakterien sind Milchsäurebakterien der Gattung Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus oder Lactobacillus.

[0014] Die britische Patentanmeldung GB-1211779 stellt ein Verfahren zur automatischen Kontrolle und Regulierung eines Mälzvorgangs bereit. Es ermöglicht die Bestimmung der Parameter, die für einen erfolgreich automatisch kontrollierten und regulierten Mälzvorgang erforderlich sind.

[0015] In den Proceedings of the European Brewery Convention, Band 16, 1977, Seite 245 bis 254, ist der Einfluss einiger Pilze auf die Malzqualität beschrieben, insbesondere die Kontamination von Gerstenmalz mit Pilzen, die zu einem Herausströmen (Gushing) und anderen qualitativen Veränderungen im Bier geführt haben. Auch auf die Sporen dieser Pilze wird Bezug genommen.

[0016] Die deutsche Patentanmeldung DE-30 28 360 offenbart ein Verfahren zur Herstellung von Malz aus Mais.

[0017] Das nach der vorliegenden Erfindung hergestellte Malz ist jedoch von besserer Qualität als das nach einem der vorigen Dokumente Hergestellte. Dies zeigt sich an den höheren Aktivitäten der β -Glucanase und Xylanase, dem geringeren β -Glucan-Gehalt im Malz und in der Würze und an den besseren analytischen Daten der European Brewery Convention.

Ziele der Erfindung

[0018] Die vorliegende Erfindung zielt darauf ab, ein verbessertes Herstellungsverfahren für gemälztes Getreide bereit zu stellen.

Zusammenfassung der Erfindung

[0019] Die vorliegende Erfindung betrifft spezifischer ein Verfahren für die Herstellung von gemälztem Getreide, wobei der Einweichvorgang einen oder mehrere Befeuchtungsstufen bei einer Temperatur zwischen 5 und 30°C, vorzugsweise zwischen 10 und 20°C, umfasst, bis das Material einen Feuchtigkeitsgehalt zwischen 20 und 60 Gew.-%, vorzugsweise zwischen 38 und 47 Gew.-%, hat, wobei das befeuchtete und gekeimte Getreide nach einer Keimdauer von 2 bis 7 Tagen, vorzugsweise von 3 bis 6 Tagen, bei einer Temperatur von 10 bis 30°C, vorzugsweise zwischen 14 und 18°C durch Erhöhen der Temperatur auf Werte von 40 bis 150°C, vorzugsweise von 45 bis 85°C, gedarrt wird, bis das Material einen Feuchtigkeitsgehalt von 2 bis 15 Gew.-%, vorzugsweise zwischen 4 und 7%, hat, und wobei eine oder mehr mikrobielle Kulturen, ausgewählt aus der Gruppe umfassend ein Bakterium oder mehrere Bakterien und/oder einen Pilz oder mehrere Pilze ein- oder mehrmals entweder vor oder während oder nach dem Mälzvorgang des Getreides zugegeben werden, und wobei mindestens eine der mikrobiellen Kulturen mithilfe aktiver Sporen inkuliert wird, wobei die aktivierte Sporen wesentlich größer sind als im Ruhestadium, wobei die Größe der aktivierten Sporen gegenüber dem Ruhestadium vorzugsweise um einen Faktor 1,2 bis 10 erhöht ist und/oder pro Spore ein oder mehrere Keimschläuche vorhanden sind.

[0020] Wie in der vorliegenden Anmeldung verwendet umfasst der Begriff „Pilze“ sowohl Pilze als auch Hefen.

[0021] Dieses Verfahren ermöglicht daher eine große Flexibilität in Bezug auf die Mälzbedingungen.

[0022] Für die Herstellung von gemälzter Gerste sind die Bakterien vorzugsweise ausgewählt aus der Gruppe umfassend Micrococcus spp., Streptococcus spp., Leuconostoc spp., Pediococcus spp., vorzugsweise Pediococcus halophilus, Pediococcus cerevisiae, Pediococcus damnosus, Pediococcus hemophilus, Pediococcus

parvulus, *Pediococcus soyae*, *Lactococcus* spp., *Lactobacillus* spp., vorzugsweise *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus bavaricus*, *Lactobacillus bifermentans*, *Lactobacillus brevis* var. *lindneri*, *Lactobacillus casei* var. *casei*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus delbrueckii* var. *lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* var. *bulgaricus*, *Lactobacillus fermenti*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus renterii*, *Lactobacillus saké*, *Lactobacillus sativorus*, *Lactobacillus cremoris*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus pentoceticus*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus bruxellensis*, *Lactobacillus buchnerii*, *Lactobacillus coryneformis*, *Lactobacillus confusus*, *Lactobacillus florentinus*, *Lactobacillus viride-scens*, *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Bifidobacterium* spp., *Streptomyces* spp., *Bacillus* spp., *Sporolactobacillus* spp., *Acetobacter* spp., *Agrobacterium* spp., *Alcaligenes* spp., *Pseudomonas* spp., vorzugsweise *Pseudomonas amylophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cocovenenans*, *Pseudomonas mexicana*, *Pseudomonas pseudomallei*, *Gluconobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Erwinia* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp.

[0023] Die Pilze für die Herstellung von gemälzter Gerste sind vorzugsweise ausgewählt aus der Gruppe (Gattungen wie beschrieben von Ainsworth und Bisbys Lexikon der Pilze, 8. Auflage, 1995, herausgegeben von DL Hawksworth, PM Kirk, BC Sutton und Debit-note Pegler (632 Seiten) Cab International) umfassend Ascomycota, vorzugsweise Dothideales, vorzugsweise Mycospheerellaceae, vorzugsweise Mycosphaerella spp., Venturiaceae, vorzugsweise Venturia spp., Eurotiales, vorzugsweise Monascaceae, vorzugsweise Monascus spp., Trichocomaceae, vorzugsweise Emericilla spp., Euroteum spp., Eupenicillium spp., Neosartorya spp., Talaromyces spp., Hypocreales, vorzugsweise Hypocreaceae, vorzugsweise Hypocrea spp., Saccharomycetales, vorzugsweise Dipodascaceae, vorzugsweise Dipodascus spp., Galactomyces spp., Endomyctaceae, vorzugsweise Endomyces spp., Metschnikowiaceae, vorzugsweise Guilliermondella spp., Saccharomycetaceae, vorzugsweise Debaryomyces spp., Dekkera spp., Pichia spp., Kluyveromyces spp., Saccharomyces spp., Torulaspora spp., Zygosaccharomyces spp., Saccharomycodaceae, vorzugsweise Hanseniaspora spp., Schizosaccharomycetales, vorzugsweise Schizosaccharomycetaceae, vorzugsweise Schizosaccharomyces spp., Sordariales, vorzugsweise Chaetomiaceae, vorzugsweise Chaetomium spp., Sordariaceae, vorzugsweise Neurospora spp., Zygomycota, vorzugsweise Mucorales, vorzugsweise Mucoraceae, vorzugsweise Absidia spp., Amylomyces spp., Rhizomucor spp., Actinomucor spp., Thermomucor spp., Chlamydomucor spp., Mucor spp., vorzugsweise Mucor circinelloides, Mucor griseicyanus, Mucor hiemalis, Mucor indicus, Mucor mucedo, Mucor piriformis, Mucor plumbeus, Mucor praini, Mucor pusillus, Mucor sylvaticus, Mucor javanicus, Mucor racemosus, Mucor rouxianus, Mucor rouxii, Mucor aromaticus, Mucor flavus, Mucor miehei, Rhizopus spp., vorzugsweise Rhizopus arrhizus, Rhizopus oligosporus, Rhizopus oryzae, vorzugsweise die Stämme ATCC 4558, ATCC 9363, NRRL 1891, NRRL 1472, Rhizopus stolonifer, Rhizopus thailandensis, Rhizopus formosaensis, Rhizopus chinensis, Rhizopus cohnii, Rhizopus japonicus, Rhizopus nodosus, Rhizopus delemar, Rhizopus acitorinus, Rhizopus chlamydosporus, Rhizopus circinans, Rhizopus javanicus, Rhizopus peka, Rhizopus saito, Rhizopus tritici, Rhizopus niveus, Rhizopus microsporus, Mitosporenpilze, vorzugsweise Aureobasidium spp., Acremonium spp., Cercospora spp., Epicoccum spp., Monilia spp., vorzugsweise Monilia candida, Monilia sitophila, Mycoderma spp., Candida spp., vorzugsweise Candida diddensiae, Candida edax, Candida etchellsii, Candida kefir, Candida krusei, Candida lactosa, Candida lambica, Candida melinii, Candida utilis, Candida milleri, Candida mycoderma, Candida parapsilosis, Candida obtux, Candida tropicalis, Candida valida, Candida versatilis, Candida guilliermondii, Rhodotorula spp., Torulopsis spp., Geotrichum spp., vorzugsweise Geotrichum amycelium, Geotrichum armillariae, Geotrichum asteroides, Geotrichum bipunctatum, Geotrichum dulcitum, Geotrichum eriense, Geotrichum fici, Geotrichum flavo-brunneum, Geotrichum fragrans, Geotrichum gracile, Geotrichum heritum, Geotrichum klebaktionii, Geotrichum penicillatum, Geotrichum hirtum, Geotrichum pseudocandidum, Geotrichum rectangulatum, Geotrichum suaveolens, Geotrichum vanryiae, Geotrichum loubieri, Geotrichum microsporum, Cladosporium spp., Trichoderma spp., vorzugsweise Trichoderma hamatum, Trichoderma harzianum, Trichoderma koningii, Trichoderma pseudokoningii, Trichoderma reesei, Trichoderma virgatum, Trichoderma viride, Oidium spp., Alternaria spp., vorzugsweise Alternaria alternata, Alternaria tenuis, Helminthosporium spp., vorzugsweise Helminthosporium gramineum, Helminthosporium sativum, Helminthosporium teres, Aspergillus spp., wie beschrieben von R. A. Samson ((1994) in Biotechnical Handbooks, Band 7: Aspergillus, herausgegeben von Smith, J. E. (273 S.), Plenum Press), vorzugsweise die Aspergillus ochraceus-Gruppe (Thom & Church), die Aspergillus nidulans-Gruppe (Thom & Church), die Aspergillus versicolor-Gruppe (Thom & Church), die Aspergillus wentii-Gruppe (Thom & Raper), die Aspergillus candidus-Gruppe (Thom & Raper), die Aspergillus flavus-Gruppe (Raper & Fennell), die Aspergillus niger-Gruppe (Thom & Church), Penicillium spp., vorzugsweise Penicillium aculeatum, Penicillium citrinum, Penicillium claviforme, Penicillium funiculosum, Penicillium italicum, Penicillium lanoso-viride, Penicillium emersonii, Penicillium lilacinum, Penicillium expansum.

[0024] Vorzugsweise sind die Bakterien für die Herstellung von gemälztem Getreide, bei dem es sich nicht um gemälzte Gerste handelt, vor allem für die Herstellung von gemälztem Weizen, Roggen, Mais, Hafer, Reis,

Hirse, Triticale und Sorghum, ausgewählt aus der Gruppe umfassend *Micrococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Bifidobacterium* spp., *Streptomyces* spp., *Bacillus* spp., *Sporolactobacillus* spp., *Acetobacter* spp., *Agrobacterium* spp., *Alcaligenes* spp., *Pseudomonas* spp., *Gluconobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Erwinia* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. oder eine Mischung davon und die Pilze sind Pilze, die aus der Gruppe bestehend aus: Ascomycota, vorzugsweise Dothideales, vorzugsweise Mycosphaerellaceae, vorzugsweise Mycosphaerella spp., Venturiaceae, vorzugsweise *Venturia* spp., Eurotiales, vorzugsweise Monascaceae, vorzugsweise *Monascus* spp., Trichocomaceae, vorzugsweise *Emericilla* spp., Euroteum spp., Eupenicillium spp., Neosartorya spp., Talaromyces spp., Hypocreales, vorzugsweise Hypocreaceae, vorzugsweise Hypocrea spp., Saccharomycetales, vorzugsweise Dipodascaceae, vorzugsweise *Dipodascus* spp., Galactomyces spp., Endomycetaceae, vorzugsweise Endomyces spp., Metschnikowiaceae, vorzugsweise Guilliermondella spp., Saccharomycetaceae, vorzugsweise Debaryomyces spp., Dekkera spp., Pichia spp., Kluyveromyces spp., Saccharomyces spp., Torulaspora spp., Zygosaccharomyces spp., Saccharomycodaceae, vorzugsweise Hanseniaspora spp., Schizosaccharomycetales, vorzugsweise Schizosaccharomycetaceae, vorzugsweise Schizosaccharomyces spp., Sordariales, vorzugsweise Chaetomiaceae, vorzugsweise Chaetomium spp., Sordariaceae, vorzugsweise Neurospora spp., vorzugsweise Zygomycota, vorzugsweise Mucorales, vorzugsweise Mucoraceae, vorzugsweise Absidia spp., Amylomyces spp., Rhizomucor spp., Actinomucor spp., Thermomucor spp., Chlamydomucor spp., Mucor spp., Rhizopus spp., Mitosporen, vorzugsweise Aureobasidium spp., Acremonium spp., Cercospora spp., Epicoccum spp., Monilia spp., Mycoderma spp., Candida spp., Rhodotorula spp., Torulopsis spp., Geotrichum spp., Cladosporium spp., Trichoderma spp., Oidium spp., Alternaria spp., Helminthosporium spp., Aspergillus spp., Penicillium spp., ausgewählt sind.

[0025] Entsprechend einer bevorzugten Ausführungsform umfasst der Herstellungsprozess von gemälztem Getreide gemäß der Erfindung die folgenden Schritte: Der Einweichschritt umfasst einen oder mehrere Befeuchtungsschritte, oder die Gesamtdauer des Eintauchens in Wasser während des Einweichens ist aus physiologischen Gründen nicht länger als 30 Stunden (vorzugsweise 10 bis 25 Stunden), oder der Darrschritt umfasst mehr als zwei Temperaturschritte, und die mikrobiellen Kulturen, die zugegeben werden, sind vorzugsweise ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus *Rhizopus* spp., vorzugsweise *Rhizopus oryzae*, wie beispielsweise der *Rhizopus oryzae*-Stamm ATCC 9363, und/oder *Pseudomonas* spp., vorzugsweise *Pseudomonas herbicola*, oder *Aspergillus* spp., vorzugsweise *Aspergillus oryzae*, wie beispielsweise *Aspergillus oryzae*-Stamm ATCC 14156.

[0026] Erfindungsgemäß sind die gemälzten Getreide ausgewählt aus der Gruppe umfassend Gerste, Weizen, Roggen, Mais, Hafer, Reis, Hirse, Triticale und Sorghum.

[0027] In dem erfindungsgemäßen Verfahren werden dieselben oder unterschiedliche Mikrobenkulturen in Gegenwart von aktivierten Sporen einmal oder mehrmals zugegeben. Die verwendeten, mikrobiellen Kulturen sind vorzugsweise Pilzkulturen. Die Verwendung aktivierter Sporen verstärkt ihren Beitrag zur verbesserten Malzqualität erheblich, sehr wahrscheinlich aufgrund ihres starken Wachstums. Die aktivierten Sporen haben eine der folgenden Eigenschaften: die behandelten Sporen sind geschwollener im Vergleich zu ihrer Größe im Ruhezustand, insbesondere ist die Größe der Sporen gegenüber dem Ruhestadium um einen Faktor 1,2 bis 10 erhöht, und/oder pro Spore sind ein oder mehrere Keimschlüche vorhanden. Die aktivierten Sporen werden hergestellt, indem sie Umgebungsveränderungen ausgesetzt werden, vorzugsweise durch mindestens eine oder eine Kombination der folgenden Behandlungen:

- (a) Zyklen des Befeuchtens und/oder Trocknens;
- (b) Zugabe entsprechender Nährstoffe (beispielsweise einer Stickstoffquelle, vorzugsweise Aminosäuren und/oder einer Kohlenstoffquelle, vorzugsweise Mono- oder Disaccharide) oder Spurenelemente;
- (c) Aussetzen gegenüber Temperaturveränderungen, vorzugsweise in einem Temperaturbereich von 0 bis 80°C.
- (d) Aussetzen gegenüber pH-Veränderungen, vorzugsweise in einem pH-Bereich von 2,0 bis 8,0, mehr bevorzugt zwischen 3,0 und 6,0.

[0028] Der Fachmann kann leicht genaue Behandlungsschritte auswählen, um entweder ein Anschwellen der Sporen oder die Bildung von Keimschlüchen wie oben erwähnt zu erhalten.

[0029] Die vorliegende Offenbarung betrifft auch die erhaltenen, gemälzten Getreide, die gemäß der European Brewery Convention verbesserte Analyseergebnisse liefern. Die Verbesserungen könnten mit einer Modifikation und/oder erhöhten Aktivitäten hydrolytischer Enzyme zusammenhängen. Gleichzeitig können ein verringriger Spiegel an Toxinen, eine erhöhte mikrobielle Sicherheit, beispielsweise durch einen Wachstumsvorteil gegenüber nicht wünschenswerter mikrobieller Flora wie beispielsweise Fusarium, und/oder eine erhöh-

te Akzeptanz im Vergleich zu dem gemälzten Getreide nach dem Stand der Technik beobachtet werden.

[0030] Beispielsweise könnte das erfindungsgemäß hergestellte, gemälzte Getreide einen niedrigeren β -Glucan-Gehalt oder eine höhere β -Glucanase- oder Xylanase-Aktivität (wie in den folgenden Beispielen und Figuren dargestellt) als das gemälzte Getreide nach dem Stand der Technik aufweisen. Dies ermöglicht eine bessere Verarbeitbarkeit des Malzes in der Würze und bei der Bierherstellung, wie sich an erhöhten Filtrationsraten zeigt.

[0031] Ein anderer Gegenstand der vorliegenden Offenbarung betrifft die Verwendung des erfindungsgemäßen, gemälzten Getreides für die Herstellung von Getränken.

[0032] Die Offenbarung betrifft auch diese verbesserten Getränke. Das erfindungsgemäße, verbesserte, gemälzte Getreide kann auch vorzugsweise während des Brauens von alkoholfreiem oder alkoholreduziertem Bier oder Leichtbier verwendet werden, da die höhere enzymatische Aktivität die Entfernung des Alkohols aus dem Bier verstärkt.

[0033] Das erfindungsgemäß hergestellte, verbesserte, gemälzte Getreide könnte auch in anderen biotechnologischen Verfahren, die einem Fachmann gut bekannt sind, verwendet werden, in denen in den meisten Fällen ihre verbesserte Qualität genutzt wird.

[0034] Ein anderer Gegenstand der vorliegenden Offenbarung betrifft die Verwendung des gemälzten Getreides mit verbesserten Eigenschaften in der Nahrungsmitteltechnologie, wie beispielsweise der Backindustrie, als ein Brotzusatz, in der Futtermitteltechnologie für die Herstellung von Tierfutter mit höheren Umwandlungseigenschaften, in der Papier- und Zellstoffindustrie als Bleichmittel oder für Tensidzusammensetzungen.

[0035] Die vorliegende Erfindung wird in verschiedenen Beispielen in Anbetracht der folgenden Zeichnungen weiter beschrieben.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

[0036] [Fig. 1](#) Gibt die β -Glucanase-Aktivität der gemälzten Gerste wieder, die nach dem Herstellungsverfahren von Beispiel 1 erhalten wurde. (Legende: siehe Beispiel 1).

[0037] [Fig. 2](#) Gibt die Xylanase-Aktivität der gemälzten Gerste wieder, die nach dem Herstellungsverfahren von Beispiel 1 erhalten wurde. (Legende: siehe Beispiel 1).

[0038] [Fig. 3](#) Gibt die β -Glucanase-Aktivität der gemälzten Gerste wieder, die nach dem Herstellungsverfahren von Beispiel 3 erhalten wurde. (Legende: siehe Beispiel 3).

[0039] [Fig. 4](#) Gibt die Xylanase-Aktivität der gemälzten Gerste wieder, die nach dem Herstellungsverfahren von Beispiel 3 erhalten wurde. (Legende: siehe Beispiel 1).

[0040] [Fig. 5](#) Gibt den relativen Steigerungsfaktor (relative increase factor, R. I. F.) für bakterielle Populationen wieder (siehe Text, Malzbeurteilung, Beispiel 2) (Legende: siehe Beispiel 2).

Beispiel 1

1. Herstellung mikrobieller Kulturen

Stamm

S46: Rhizopus oryzae ATCC 9363

Herstellung der Sporensuspension

- Der Stamm wurde für etwa 10 Tage bei 28°C auf Kartoffel-Dextrose-Agar (Potato Dextrose Agar, PDA; Oxoid) gezüchtet.
- Die Sporen wurden geerntet, indem die Kulturen mit steriler physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl) überspült und das sporulierte Myzel vorsichtig mit einem sterilen Spatel abgerieben wurde.
- Die Sporensuspension wurde zweimal mit steriler, physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl) durch Zentri-

fugation (5500 Umdrehungen pro Minute, Sorvall Typ 11-34® für 15 Minuten) gewaschen und in physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl) resuspendiert;

- Die Sporendichte wurde mikroskopisch mithilfe einer Thoma-Zählkammer bestimmt.

Aktivierung der Sporesuspension

– 10^7 Sporen wurden in 20 ml sterile, angesäuerte TSB (Tryptic Soy Broth, Oxoid), pH = 4,0, überführt und in einem Schüttelwasserbad für 5 bis 6 Stunden bei + 42°C inkubiert;

– Die aktivierten Sporen wurden durch Zentrifugation geerntet (3500 Umdrehungen pro Minute, Sorvall Typ SS-34®, für 15 Minuten), einmal mit steriler physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl) durch Zentrifugation (3500 Umdrehungen pro Minute, Sorvall Typ SS-34®, für 15 Minuten) gewaschen und in steriler physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl) resuspendiert.

2. Gerste

– Plaisant – Französische Ernte 1994

3. Verfahren

Aufbau

[0041] Malz wurde nach vier unterschiedlichen Mälzverfahren hergestellt:

– A1. Klassisches Mälzen

(ohne Animpfen einer Sporesuspension)

– B1. Mälzen mit Animpfen mit nicht aktivierte Sporen

(Animpfen der eingeweichten Gerste mit einer Suspension aus nicht aktivierte Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363).

– C1. Erfindungsgemäßes Mälzverfahren

(Animpfen der eingeweichten Gerste mit einer Suspension aus aktivierte Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363).

– D1. Erfindungsgemäßes Mälzverfahren

(Animpfen der eingeweichten Gerste während der ersten Befeuchtungsstufe mit einer Suspension aus aktivierte Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363).

Einweichen

– Das Einweichen wurde mit einer Basis von 2 kg mit einem Gesamtverhältnis von Wasser (Leitungswasser) zu luftgetrockneter Gerste von 1,5 : 1 durchgeführt;

– Es wurden 2 Fermenter (Bioflo III, New Brunswick Scientific) verwendet, in die perforierte Platten platziert wurden;

– Die Temperatur wurde nur während der Befeuchtungsstufen kontrolliert; während der Ruhephasen an der Luft konnte das System Raumtemperatur ($\pm 20^\circ\text{C}$) annehmen;

– Die Gerste wurde während des gesamten Einweichzeitraums belüftet (4 Liter sterile Luft pro Minute);

– Das Einweichen erfolgte durch Eintauchen anhand des folgenden Schemas:

	Temperatur (° C)	Dauer (Std.)
Erste Befeuchtungsstufe	13	6:00
Erste Ruhephase an der Luft	20	17:00
Zweite Befeuchtungsstufe	14	5:00
Zweite Ruhephase an der Luft	20	15:30
Dritte Befeuchtungsstufe	16	2:30

Zugabe der mikrobiellen Kulturen

- ±460 g eingeweichte Gerste wurden in 0,5 l Leitungswasser, das keine Sporen (A1), nicht aktivierte Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363 (B1) oder aktivierte Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363 (C1, erfindungsgemäß) enthielt, eingetaucht; bei B1 und C1 wurde die eingeweichte Gerste mit 10^4 Sporen pro Gramm luftgetrockneter Gerste angeimpft;
- Während des Einweichens wurde das Wasser der ersten Befeuchtungsstufe (D1) mit 10^4 aktivierten Sporen pro Gramm luftgetrockneter Gerste angeimpft;
- Die Flüssigkeit wurde durch Ablaufenlassen entfernt.

Keimung

- Die Keimung wurde in einem zylindrischen Behälter mit perforiertem Deckel bei einer Temperatur von 16–18°C über 4 Tage durchgeführt;
- Die Luftzufuhr erfolgte durch natürliche Diffusion;
- Die Behälter wurden langsam auf einem elektronisch gesteuerten Rollsystem (Cellroll®, Tecnorama) gerollt, d. h. alle zwei Stunden wurden die Behälter 15 Minuten lang bei 1 Umdrehung pro Minute gerollt.

Darren

- Das Darren wurde in einer Joe White-Mälzeinheit (Australien) durchgeführt.

	Luftstrom (%)	Umgewälzte Luft (%)	Temp. (° C)	Dauer (Std.)
Erste Darrstufe	25	0	62	3:00
Zweite Darrstufe	25	0	65	2:00
Dritte Darrstufe	25	0	68	2:00
Vierte Darrstufe	25	25	73	2:00
Fünfte Darrstufe	25	50	78	1:00
Sechste Darrstufe	25	75	80	2:00
Siebte Darrstufe	25	100	83	6:00
Abschalten, Luft aus				Zeit abgelaufen

4. Analyseverfahren und Ergebnisse

[0042] Bestimmungsverfahren und Einheiten der Feuchtigkeit, Extrakt, Extraktunterschied, Farbe, Gesamtproteingehalt, löslicher Proteingehalt, Kohlbach-Index, pH-Wert, diastatische Kraft gemäß Analytica-European Brewery Convention (Vierte Auflage, 1987, Brauerei und Getränke-Rundschau).

[0043] Bestimmungsverfahren und Einheiten der Trübung, Zerreibbarkeit, Homogenität, ganzem Korn, β -Glucan-Gehalt gemäß Analytica-European Brewery Convention (Vierte Auflage, 1987, Brauerei und Getränke-Rundschau, Ergänzung veröffentlicht 1989).

[0044] Die Nachfärbung der Würze wird nach Kochen der Kongresswürze unter Rückfluss bei 108°C für 2 Stunden bestimmt.

[0045] Die Viskosität der Kongresswürze wird mit dem Delta-Viskosimeter bestimmt.

[0046] Zur Bestimmung des Filtrationsvolumens wird die Kongresswürze über einen Falzfilter Typ 597 ½ von Schleicher und Schuell gefiltert. Das Volumen (in ml), das nach 1 Stunde Filtration erhalten wird, ist das Filtrationsvolumen der Würze.

[0047] Die Modifizierung wird mit dem Calcofluor-Apparat (Haffmans) nach dem Carlsberg-Verfahren (Analytica-European Brewery Convention, Vierte Auflage, 1987, Brauerei und Getränke-Rundschau) bestimmt.

[0048] Die β -Glucanase-Aktivität wird mit dem β -Glucazym-Verfahren ((Megazyme (Austr.) Pty Ltd (April 1993)) und die Xylanase-Aktivität mit dem Xylazym-Verfahren ((Megazyme (Austr.) Pty Ltd (September 1995)) bestimmt.

	Klassische Mälzverfahren (A1)	Mälzverfahren mit Animpfen mit nicht aktivierten Sporen (B1)	Erfindungsgemäßes Mälzverfahren (C1)	Erfindungsgemäßes Mälzverfahren (D1)
Feuchtigkeit	3,9	4,1	3,8	4,3
Extrakt	80,3	8034	80,3	79,8
Extraktunterschied	0,8	0,8	0,4	1,1
Farbe	3,3	3,3	4,1	4,1
Trübung der Würze	1,3	1,2	0,7	0,8
Nachfärbung	6,0	6,0	7,3	7,5
Gesamtprotein gehalt	10,1	10,3	10,0	10,1
Löslicher Proteingehalt	4,1	4,4	4,8	5,2
Kohlbach-Index	40,6	42,7	48,0	51,0
Viskosität	1,57	1,52	1,52	1,54
pH-Wert	6,05	6,3	5,87	5,79
Diastatische Kraft	345	349	352	419
Ganzes Korn	0,3	0,3	0,1	NB
Zerreibbarkeit	83	82	83,9	NB
Homogenität	98,5	97,9	98,6	NB
β-Glucan-Gehalt	122	108	46	<40

Filtrationsvolumen	210	265	290	275
Modifikation	88,2	90,5	93,4	NB
β -Glucanase	214	371	683	3856
Xylanase-Aktivität	28	34	56	984

NB Nicht bestimmt

[0049] [Fig. 1](#) gibt die β -Glucanase-Aktivität und [Fig. 2](#) die Xylanase-Aktivität der erhaltenen gemälzten Gerste wieder (A1, B1, C1, D1). Die β -Glucanase-Aktivität wurde anhand des β -Glucazym-Verfahrens [Megazyme (Austr.) Pty Ltd (April 1993)] bestimmt. Die β -Glucanase-Aktivität des Malzes (E/kg) wurde daher als $380 \times E(590 \text{ nm}) + 20$ berechnet. Die Xylanase-Aktivität wurde anhand des Endo-1,4-Xylazym-Verfahrens bestimmt [Megazyme (Austr.) Pty Ltd (September 1995)]. Die Xylanase-Aktivität des Malzes (E/kg) wurde daher als $(46,8 \times E(590 \text{ nm}) + 0,9) \times 5$ berechnet.

Beispiel 2

1. Herstellung mikrobieller Kulturen

Stamm

S46: Rhizopus oryzae ATCC 9363

Herstellung der Sporensuspension

– Wie in Beispiel 1 beschrieben.

Aktivierung der Sporensuspension

– Wie in Beispiel 1 beschrieben.

2. Gerste

– Stander – Nordamerikanische Ernte 1995

3. Verfahren

Aufbau

[0050] Malz wurde nach sechs unterschiedlichen Mälzverfahren hergestellt:

- A2. Klassisches Mälzen
(ohne Animpfen einer Sporensuspension)
- B2. Mälzen mit Animpfen mit nicht aktivierten Sporen
(Animpfen der eingeweichten Gerste mit einer Suspension aus nicht aktivierten Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363).
- C2. Erfnungsgemäßes Mälzverfahren
(Animpfen der eingeweichten Gerste während der ersten Befeuchtungsstufe mit einer Suspension aus aktivierten Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363).
- D2. Erfnungsgemäßes Mälzverfahren
(Animpfen der eingeweichten Gerste während der zweiten Befeuchtungsstufe mit einer Suspension aus aktivierten Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363).
- E2. Erfnungsgemäßes Mälzverfahren
(Animpfen der eingeweichten Gerste während der dritten Befeuchtungsstufe mit einer Suspension aus aktivierten Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363).
- F2. Erfnungsgemäßes Mälzverfahren
(Animpfen der eingeweichten Gerste mit einer Suspension aus aktivierten Sporen von Rhizopus oryzae

ATCC 9363).

Einweichen und Zugabe der mikrobiellen Kulturen

- Das Einweichen wurde mit einer Basis von 300 g mit einem Gesamtverhältnis von Wasser (Leitungswasser) zu luftgetrockneter Gerste von 5 : 3 durchgeführt;
- Es wurden 2000 ml-Flaschen verwendet;
- Während der Befeuchtungsstufen und während der Ruhephasen an der Luft wurde eine Temperatur von 18°C aufrecht erhalten;
- Die Gerste wurde während des gesamten Einweichzeitraums mit Druckluft belüftet;
- Das Einweichen erfolgte durch Eintauchen anhand des folgenden Schemas:

	Dauer (Std.)
Erste Befeuchtungsstufe	6:00
Erste Ruhephase an der Luft	18:00
Zweite Befeuchtungsstufe	5:00
Zweite Ruhephase an der Luft	19:00
Dritte Befeuchtungsstufe	2:00

- Während des Einweichens wurde das Wasser der ersten Befeuchtungsstufe (C2), der zweiten Befeuchtungsstufe (D2) oder der dritten Befeuchtungsstufe (E2) vor dem Eintauchen der Gerste mit 10^4 aktivierten Sporen pro Gramm luftgetrockneter Gerste angeimpft;
- Die eingeweichte Gerste wurde in 0,5 Liter Leitungswasser eingetaucht, das keine Sporen (A2, C2, D2, E2), nicht aktivierte (B2) oder aktivierte (F2) Sporen enthielt;
- Für B2 und F2 wurde die eingeweichte Gerste mit 10^4 Sporen pro Gramm luftgetrockneter Gerste angeimpft;
- Die Flüssigkeit wurde durch Ablaufenlassen entfernt.

Keimung

- Wie in Beispiel 1 beschrieben.

Darren

- Wie in Beispiel 1 beschrieben.

Malzbeurteilung

Bestimmung der Zunahme der bakteriellen Population

[0051] Zur Beurteilung der Entwicklung der bakteriellen Population während des Mälzverfahrens wurde ein relativer Zunahmefaktor (relative increase factor, R. I. F.) bestimmt, indem die Gesamtzahl an Bakterien auf dem grünen Malz durch die Gesamtzahl der Bakterien auf der Gerste dividiert wurde. Die Gesamtzahl an Bakterien wurde nach dem Ausstreichen entsprechender Verdünnungen eines Extraktes der Körner auf Tryptic Soy Agar (Oxoid), ergänzt mit 100 ppm Pimaricin und nach Inkubation bei 28°C für 3 Tage bestimmt.

[0052] [Fig. 5](#) zeigt die Zunahme der Bakterienpopulation während des Mälzens nach dem Herstellungsverfahren von Beispiel 2.

Beispiel 3

1. Herstellung mikrobieller Kulturen

Stamm

S46: Rhizopus oryzae ATCC 9363

Herstellung der Sporensuspension

- Wie in Beispiel 1 beschrieben.

Aktivierung der Sporensuspension

- Wie in Beispiel 1 beschrieben.

2. Gerste

- Plaisant – Französische Ernte 1994;

3. Verfahren

Aufbau

[0053] Malz wurde nach drei unterschiedlichen Mälzverfahren hergestellt:

- A3. Klassisches Mälzen
(ohne Animpfen einer Sporensuspension)
- B3. Mälzen mit Animpfen mit nicht aktivierte Sporen
(Animpfen der eingeweichten Gerste mit einer Suspension aus nicht aktivierte Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363).
- C3. Erfindungsgemäßes Mälzverfahren
(Animpfen der eingeweichten Gerste mit einer Suspension aus aktivierte Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363).

Einweichen

- Das Einweichen wurde mit einer Basis von 2 kg mit einem Gesamtverhältnis von Wasser (Leitungswasser) zu luftgetrockneter Gerste von 1,5 : 1 durchgeführt;
- Der pH-Wert des Einweichwassers wurde bei einem pH = 5,5 durch Zugabe von Milchsäure und NaOH kontrolliert;
- Zum Einweichen wurde ein Fermenter (Bioflo III, New Brunswick Scientific) verwendet, in den eine perforierte Platte platziert wurde;
- Die Temperatur wurde nur während der Befeuchtungsstufen kontrolliert; während der Ruhephasen an der Luft konnte das System Raumtemperatur (etwa 20°C) annehmen;
- Die Gerste wurde während des gesamten Einweichzeitraums belüftet (4 Liter sterile Luft pro Minute);
- Das Einweichen erfolgte durch Eintauchen anhand des folgenden Schemas:

	Temperatur (° C)	Dauer (Std.)
Erste Befeuchtungsstufe	13	6 : 00
Erste Ruhephase an der Luft	20	17 : 00
Zweite Befeuchtungsstufe	14	5 : 00
Zweite Ruhephase an der Luft	20	15 : 30
Dritte Befeuchtungsstufe	16	2 : 30

Zugabe der mikrobiellen Kulturen

- 460 g eingeweichte Gerste wurden in 0,5 l Leitungswasser, das keine Sporen (A3), nicht aktivierte Sporen

von Rhizopus oryzae ATCC 9363 (B3) oder aktivierte Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363 (C3, erfindungsgemäß) enthielt, eingetaucht; bei B3 und C3 wurde die eingeweichte Gerste mit 1×10^4 Sporen pro Gramm luftgetrockneter Gerste angeimpft;

- Die Flüssigkeit wurde durch Ablaufenlassen entfernt.

Keimung

- Wie in Beispiel 1 beschrieben.

Darren

- Wie in Beispiel 1 beschrieben.

4. Analyseverfahren und Ergebnisse

[0054] Diese entsprachen den in Beispiel 1 beschriebenen (4. Analyseverfahren und Ergebnisse).

[0055] Siehe Tabelle auf der nächsten Seite. In dieser Tabelle ist:

- A1/3 Klassisches Mälzverfahren
- B1/3 Mälzverfahren mit Animpfen mit nicht aktivierten Sporen
- C1/3 Erfindungsgemäßes Mälzverfahren

	Beispiel 3 pH-Kontrolle des Einweichwassers (pH = 5,5)			Beispiel 1 Keine pH-Kontrolle des Einweichwassers		
	A3	B3	C3	A1	B1	C1
Feuchtigkeit	3, 8	3, 6	3, 7	3, 9	4, 1	3, 8
Extrakt	78, 9	80, 2	80, 7	80, 3	80, 4	80, 3
Extraktunterschied	0, 6	0, 7	0, 4	0, 8	0, 8	0, 4
Farbe	3, 2	4, 2	4, 4	3, 3	3, 3	4, 1
Trübung der Würze	1	1	0, 8	1, 3	1, 2	0, 7
Nachfärbung	5, 1	7	7, 2	6	6	7, 3
Gesamtproteingehalt	10, 2	10, 1	10	10, 1	10, 3	10
Löslicher Proteingehalt	4	4, 4	4, 8	4, 1	4, 4	4, 8
Kohlbach-Index	39, 2	43, 6	48	40, 6	42, 7	48
Viskosität	1, 52	1, 53	1, 52	1, 57	1, 52	1, 52
pH-Wert	6, 02	5, 97	5, 91	6, 05	6, 03	5, 87
Diastatische Kraft	348	333	355	345	349	352
Ganzes Korn	0, 2	0, 2	0, 1	0, 3	0, 3	0, 1
Zerreißbarkeit	81	81	85	83	82	83, 9
Homogenität	97, 6	97, 8	98, 9	98, 5	97, 9	98, 6
β -Glucan-Gehalt	190	57	40	122	108	46
Filtrationsvolumen	210	215	200	210	265	290
Modifikation	84, 1	85, 5	87, 4	88, 2	90, 5	93, 4

β -Glucanase-Aktivität	202	931	1322	214	371	683
Xylanase-Aktivität	43	65	71	28	34	56

[0056] [Fig. 3](#) gibt die β -Glucanase-Aktivität der gemälzten Getreide A3, B3 und C3 gemessen nach dem β -Glucazym-Verfahren [Megazyme (Austr.) Pty. Ltd.] wieder. Die β -Glucanase-Aktivität des Malzes (E/kg) wurde wie in Beispiel 1 beschrieben berechnet. A3 wurde durch das klassische Mälzverfahren mit einer pH-Kon-

trolle des Einweichwassers ($\text{pH} = 5,5$) erhalten. B3 ergab sich aus dem erfindungsgemäßen Mälzverfahren, wobei die eingeweichte Gerste mit einer Suspension von nicht aktivierten Sporen von *Rhizopus oryzae* ATCC 9363 angeimpft und der pH-Wert des Einweichwassers kontrolliert wurde ($\text{pH} = 5,5$). C3 wurde durch das erfindungsgemäße Mälzverfahren erhalten, wobei die eingeweichte Gerste mit einer Suspension von aktivierten Sporen von *Rhizopus oryzae* ATCC 9363 angeimpft und der pH-Wert des Einweichwassers kontrolliert wurde ($\text{pH} = 5,5$).

[0057] Diese Ergebnisse zeigen die erhöhte β -Glucanase-Aktivität, wenn der pH-Wert des Einweichwassers bei etwa 5,5 gehalten wird.

[0058] [Fig. 4](#) gibt die entsprechenden Ergebnisse für die Xylanase-Aktivität wieder. Diese wurde nach der Xylazym-Methode [Megazyme (Austr.) Pty. Ltd. (September 1995)] gemessen. Die Xylanase-Aktivität des Malzes wurde wie in Beispiel 1 beschrieben berechnet.

Vergleich der nach Beispiel 1 und 3 erhaltenen β -Glucanase-Aktivität mit der nach dem Stand der Technik erhaltenen β -Glucanase-Aktivität wie beschrieben in WO 94/29430

[0059] Zum Vergleich der verbesserten Ergebnisse hinsichtlich β -Glucanase-Aktivität durch die vorliegende Erfindung haben wir den Faktor μ folgendermaßen definiert:

$$\mu = \frac{\beta\text{-Glucanase-Aktivität des behandelten Malzes}}{\beta\text{-Glucanase-Aktivität des Kontrollmalzes}}$$

[0060] Dieser Faktor wurde für Kontrollmalz und für mit *Rhizopus oryzae* ATCC 9363 behandeltes Malz wie in Beispiel 1 und 3 der vorliegenden Erfindung beschrieben berechnet.

[0061] Er wurde auch für die in WO 94/29430 beschriebenen Daten (Beispiel 1) berechnet, bei denen *Geotrichum candidum* verwendet wurde.

[0062] Die in WO 94/29430 beschriebene β -Glucanase-Aktivität und die β -Glucanase-Aktivität in der vorliegenden Erfindung wurden nach dem Beta-Glucazym-Verfahren bestimmt [Megazyme (Austr.) Pty. Ltd. (April 1993)]. Die β -Glucanase-Aktivität des Malzes (E/kg) wurde daher als $380 \times E(590 \text{ nm}) + 20$ berechnet, und eine Aktivitätseinheit war definiert als die Menge Enzym, die erforderlich ist, um ein Mikromol an reduzierenden Zuckeräquivalenten pro Minute unter den oben definierten Bedingungen freizusetzen.

Vergleich der Ergebnisse

Stand der Technik				Erfindung			
	μ	μ	μ	Bsp. 1	μ	Bsp. 3	μ
Gc*	1,48	Gc*	1,93	C1/A1	3,19	C3/A3	6,54
B1/A1	1,73	B3/A3	4,61	D1/A1	18,02		

Gc* *Geotrichum candidum*

[0063] Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass die vorliegende Erfindung eine drastischere Erhöhung der β -Glucanase-Aktivität des Malzes als zuvor beschrieben (WO 94/29430) liefert.

[0064] Es erscheint also möglich, gemälztes Getreide mit einer β -Glucanase-Aktivität zu erhalten, die gegenüber dem klassischen Mälzverfahren um einen Faktor von mindestens 4 erhöht ist, wobei die Zugabe von mikrobiellen Kulturen entfällt.

[0065] Aus [Fig. 2](#) und [Fig. 4](#) erscheint es außerdem, dass es möglich ist, gemälztes Getreide mit einer Xylanase-Aktivität zu erhalten, die gegenüber dem klassischen Mälzverfahren um einen Faktor von mindestens 4 erhöht ist, wobei die Zugabe von mikrobiellen Kulturen entfällt.

Beispiel 4

1. Herstellung der mikrobiellen Kulturen

Stamm

S40: Aspergillus oryzae ATCC 14156

Herstellung der Sporensuspension

- Der Stamm wurde für etwa 7 Tage bei 28°C auf Kartoffel-Dextrose-Agar (Potato Dextrose Agar, PDA; Oxoid) gezüchtet.
- Die Sporen wurden geerntet, indem die Kultur mit steriler physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl) überspült und das sporulierte Myzel vorsichtig mit einem sterilen Spatel abgerieben wurde.
- Die Sporensuspension wurde einmal mit steriler, physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl) durch Zentrifugation (5500 Umdrehungen pro Minute, Sorvall Typ SS-34® für 15 Minuten) gewaschen und in steriler physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl) resuspendiert;
- Die Sporendichte wurde mikroskopisch mithilfe einer Thoma-Zählkammer bestimmt.

Aktivierung der Sporensuspension

- 5×10^7 Sporen wurden in 20 ml sterile, angesäuerte TSB (Tryptic Soy Broth, Oxoid), pH = 5,0, überführt und in einem Schüttelwasserbad für 3 Stunden (1) oder 1 Stunde (2) bei 35°C inkubiert;

2. Gerste

- Clarine Gerste – Französische Ernte 1995

3. Verfahren

Aufbau

[0066] Malz wurde nach zwei unterschiedlichen Mälzverfahren hergestellt:

- A4. Klassisches Mälzen
(ohne Animpfen einer Sporensuspension)
- E4. Erfindungsgemäßes Mälzverfahren
(Animpfen der eingeweichten Gerste während der ersten und dritten Befeuchtungsstufe mit einer Suspension aus aktivierten Sporen von Aspergillus oryzae ATCC 14156).

Einweichen

- Wie in Beispiel 1 beschrieben.

Zugabe der mikrobiellen Kulturen

- Während des Einweichens wurde das Wasser der ersten Befeuchtungsstufe mit 5×10^3 aktivierten Sporen (1) pro Gramm luftgetrockneter Gerste angeimpft und das Wasser der dritten Befeuchtungsstufe (E4) wurde mit 1×10^4 aktivierten Sporen (2) pro Gramm luftgetrockneter Gerste angeimpft;

Keimung

- Die Keimung von ± 460 g eingeweichter Gerste wurde in zylindrischen Behältern mit perforierten Deckeln bei einer Temperatur von 16–18°C für die Dauer von 4 Tagen durchgeführt;
- Die Luftzufuhr erfolgte durch natürliche Diffusion;
- Die Behälter wurden langsam auf einem elektronisch kontrollierten Rollsystem (Cellroll®, Tecnorama) gerollt, das heißt, dass die Behälter alle zwei Stunden 15 Minuten bei 1 Umdrehung pro Minute gerollt wurden.

Darren

- Wie in Beispiel 1 beschrieben.

4. Analyseverfahren und Ergebnisse

[0067] Diese waren wie in Beispiel 1 beschrieben (4. Analyseverfahren und Ergebnisse).

[0068] Die Blattkeimlänge wurde durch Klassifizierung der Körner in 6 Kategorien bestimmt, d. h. solche Körner ohne Blattkeime (0) und solche mit einer Blattkeimlänge von 0 bis 25% (0–1/4), 25 bis 50% (1/4–1/2), 50 bis 75% (3/4–1) und > 100% (> 1) der Kornlänge.

		0	0 - 1/4	1/4 - ½	1/2 - 3/4	3/4 - 1	> 1
1-tägige Keimung	A4	0	1	60	39	0	0
1-tägige Keimung	E4	0	0	11	77	12	0
4-tägige Keimung	A4	1	1	31	64	3	0
4-tägige Keimung	E4	1	0	1	42	49	7

[0069] Es wurde bemerkt, dass die Verwendung aktivierter Sporen von Aspergillus oryzae ATCC 14156 die analytischen Spezifikationen des Malzes verbesserte (siehe unten). Des Weiteren stellte sich überraschenderweise heraus, dass die Blattkeimlängen der Gerste während des Mälzvorgangs erheblich länger waren, wenn das erfundungsgemäße Verfahren anstelle des klassischen Verfahrens verwendet wurde.

	Klassisches Mälzverfahren (A4)	Erfundungsgemäßes Mälzverfahren (E4)
Feuchtigkeit	4,3	4,0
Extrakt	80,9	81,1
Extraktunterschied	1,0	0,3

Farbe	2,8	3,2
Trübung der Würze	1,6	1,0
Nachfärbung	4,8	5,4
Gesamtproteingehalt	10,1	10,0
Löslicher Proteingehalt	3,9	4,5
Kohlbach-Index	38,6	44,7
Viskosität	1,57	1,48
pH-Wert	5,98	5,89
Diastatische Kraft	197	201
Ganzes Korn	1,3	0,6
Zerreibbarkeit	81	89
Homogenität	95,0	98,4
β -Glucan-Gehalt	378	132
Filtrationsvolumen	300	310
Modifikation	83,9	89,8
β -Glucanase-Aktivität	309	392
Xylanase-Aktivität	27,82	17,52

Beispiel 5

1. Herstellung der mikrobiellen Kulturen

Stamm

- S40: Aspergillus oryzae ATCC 14156
- S46: Rhizopus oryzae ATCC 9363

Herstellung der Sporensuspension

- Wie in Beispiel 4 beschrieben.

Aktivierung der Sporensuspension

S40

- 5×10^7 Sporen wurden in 20 ml sterile, angesäuerte Broth, TSB (Tryptic Soy Oxoid), pH = 5,0, überführt und in einem Schüttelwasserbad für 1 Stunde bei 35°C inkubiert;
- Die aktivierten Sporen wurden durch Zentrifugation (3500 Umdrehungen pro Minuten, Sorvall Typ SS-34® für 15 Minuten) geerntet und in steriler, physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl) resuspendiert.

S46

- 5×10^7 Sporen wurden in 20 ml sterile, angesäuerte Broth, TSB (Tryptic Soy Oxoid), pH = 4,0, überführt und in einem Schüttelwasserbad für 5 Stunden bei 42°C inkubiert;
- Die aktivierten Sporen wurden durch Zentrifugation (3500 Umdrehungen pro Minuten, Sorvall Typ SS-34® für 15 Minuten) geerntet und in steriler, physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl) resuspendiert.

2. Getreide

- Clarine – Französische Ernte 1995

3. Verfahren

Aufbau

[0070] Malz wurde nach zwei unterschiedlichen Mälzverfahren hergestellt:

- A5. Klassisches Mälzen
(ohne Animpfen einer Sporensuspension)
- F5. Erfindungsgemäßes Mälzverfahren

(Animpfen der eingeweichten Gerste während der ersten Befeuchtungsstufe mit einer Suspension aus aktivierten Sporen von Aspergillus oryzae ATCC 14156 und nach dem Einweichen mit einer Suspension aus aktivierten Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363).

Einweichen

- Wie in Beispiel 1 beschrieben.

Zugabe der mikrobiellen Kulturen

- Während des Einweichens wurde das Wasser der ersten Befeuchtungsstufe mit 1×10^4 aktivierten Sporen von Aspergillus oryzae ATCC 14156 pro Gramm luftgetrockneter Gerste angeimpft (F5, erfindungsgemäß);
- ±460 g eingeweichte Gerste wurden in 0,5 l Leitungswasser eingetaucht, das keine Sporen (A5) oder aktivierte Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363 (F5, erfindungsgemäß) enthielt; Bei F5 wurde die eingeweichte Gerste mit 1×10^4 aktivierten Sporen pro Gramm luftgetrockneter Gerste angeimpft;
- Die Flüssigkeit wurde durch Ablaufenlassen entfernt.

Keimung

- Wie in Beispiel 4 beschrieben.

Darren

- Wie in Beispiel 1 beschrieben.

4. Analyseverfahren und Ergebnisse

[0071] Diese waren wie in Beispiel 1 beschrieben (4. Analyseverfahren und Ergebnisse).

[0072] Das Verfahren zur Bestimmung der Blattkeimlänge war wie in Beispiel 4.

		0	0 - 1/4	1/4 - ½	1/2 - ¾	3/4 - 1	> 1
1-tägige Keimung	A5	1	1	53	44	1	0
1-tägige Keimung	F5	0	1	21	73	5	0
4-tägige Keimung	A5	0	0	0	29	63	8
4-tägige Keimung	F5	0	0	0	13	63	24

	Klassisches Mälzverfahren (A5)	Erfindungsgemäßes Mälzverfahren (F5)
Feuchtigkeit	3,9	4,2
Extrakt	81,4	81,8

Extraktunterschied	0,9	1,1
Farbe	3,8	3,8
Trübung der Würze	1,4	1,0
Nachfärbung	6,9	6,4
Gesamtproteingehalt	10,1	10,2
Löslicher Proteingehalt	4,8	5,2
Kohlbach-Index	48,0	51,3
Viskosität	1,51	1,50
pH-Wert	5,88	5,82
Diastatische Kraft	199	214
Ganzes Korn	0,8	1,1
Zerreibbarkeit	89	95
Homogenität	98,3	98,3
β -Glucan-Gehalt	120	51
Filtrationsvolumen	270	220
Modifikation	96,8	98,6
β -Glucanase-Aktivität	263	907
Xylanase-Aktivität	28,86	57,76

Beispiel 6

1. Herstellung der mikrobiellen Kulturen

Stamm

– S46: Rhizopus oryzae ATCC 9363

Herstellung der Sporensuspension

– Wie in Beispiel 4 beschrieben.

Aktivierung der Sporensuspension

– 5×10^7 Sporen wurden in 20 ml sterile, angesäuerte TSB (Tryptic Soy Broth, Oxoid), pH = 4,0, überführt und in einem Schüttelwasserbad für 5 Stunden bei 42°C inkubiert;

– Die aktivierten Sporen wurden durch Zentrifugation (3500 Umdrehungen pro Minuten, Sorvall Typ SS-34® für 15 Minuten) geerntet und in steriler, physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl) resuspendiert.

2. Getreide

– Weizen: Mobil – Belgische Ernte 1996.

3. Verfahren

Aufbau

[0073] Malz wurde nach zwei unterschiedlichen Mälzverfahren hergestellt:

- A6. Klassisches Mälzen
(ohne Animpfen einer Sporensuspension)
- D6. Erfnungsgemäßes Mälzverfahren

(Animpfen des eingeweichten Weizens während der ersten Befeuchtungsstufe mit einer Suspension aus aktivierten Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363).

Einweichen

- Das Einweichen wurde mit einer Basis von 2 kg mit einem Gesamtverhältnis von Wasser (Leitungswasser) zu Luft von 1,5 : 1 durchgeführt;
- Es wurden 2 Fermenter (Bioflo III, New Brunswick Scientific) verwendet, in die eine perforierte Platte platziert wurde;
- Die Temperatur wurde nur während der Befeuchtungsstufen kontrolliert; während der Ruhephasen an der Luft konnte das System Raumtemperatur ($\pm 20^\circ\text{C}$) annehmen;
- Der Weizen wurde während des gesamten Einweichzeitraums belüftet (4 Liter sterile Luft pro Minute);
- Das Einweichen erfolgte durch Eintauchen anhand des folgenden Schemas:

	Temperatur ($^\circ\text{C}$)	Dauer (Std.)
Erste Befeuchtungsstufe	13	6 : 00
Erste Ruhephase an	20	16 : 00

der Luft		
Zweite Befeuchtungsstufe	14	4 : 00
Zweite Ruhephase an der Luft	20	16 : 00
Dritte Befeuchtungsstufe	16	2 : 00

Zugabe der mikrobiellen Kulturen

- \pm Während des Einweichens wurde das Wasser der ersten Befeuchtungsstufe mit 1×10^4 aktivierten Sporen pro Gramm luftgetrocknetem Weizen angeimpft (D6);

Keimung

- Wie in Beispiel 4 beschrieben.

Darren

- Wie in Beispiel 1 beschrieben.

4. Analyseverfahren und Ergebnisse

[0074] Diese waren wie in Beispiel 1 beschrieben (4. Analyseverfahren und Ergebnisse).

	Klassisches Mälzverfahren (A6)	Erfindungsgemäßes Mälzverfahren (D6)
Feuchtigkeit	5,5	5,4
Extrakt	83,6	85,5
Extraktunterschied	1,0	0,6
Farbe	3,9	7,6
Trübung der Würze	1,4	1,4
Nachfärbung	5,8	11,5
Gesamtproteingehalt	14,0	14,6
Löslicher Proteingehalt	4,9	9,7

Kohlbach-Index	35,0	65,5
Viskosität	1,99	1,79
pH-Wert	6,02	5,63
Diastatische Kraft	183	193
Ganzes Korn	19,4	20,2
Zerreibbarkeit	35	42
Homogenität	79,4	78,7
Filtrationsvolumen	220	295
β -Glucanase-Aktivität	109	16,640
Xylanase-Aktivität	16,85	1.620,1

Beispiel 7

1. Herstellung der mikrobiellen Kulturen

Stamm

– S46: Rhizopus oryzae ATCC 9363

Herstellung der Sporensuspension

- Der Stamm wurde für etwa 7 Tage bei 28°C auf Kartoffel-Dextrose-Agar (Potato Dextrose Agar, PDA; Oxoid) gezüchtet.
- Die Sporen wurden geerntet, indem die Kulturen mit steriler physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl) über-spült und das sporulierte Myzel vorsichtig mit einem sterilen Spatel abgerieben wurde.
- Die Sporensuspension wurde einmal mit steriler, physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl) durch Zentrifugation (3500 Umdrehungen pro Minute, Jouan C312 für 15 Minuten) gewaschen und in physiologischer Salzlösung (0,9% NaCl) resuspendiert;
- Die Sporedichte wurde mikroskopisch mithilfe einer Thoma-Zählekammer bestimmt.

Aktivierung der Sporensuspension

- 5×10^7 Sporen wurden in 20 ml sterile, angesäuerte TSB (Tryptic Soy Broth, Oxoid), pH = 4,0, überführt und in einem Schüttelwasserbad für 5 Stunden (1) bei ±42°C inkubiert;

2. Getreide

– Sorghum

3. Verfahren

Aufbau

[0075] Malz wurde nach zwei unterschiedlichen Mälzverfahren hergestellt:

- A7. Klassisches Mälzen
(ohne Animpfen einer Sporensuspension)
- D7. Erfindungsgemäßes Mälzverfahren
(Animpfen des Sorghums während der ersten Befeuchtungsstufe mit einer Suspension aus aktivierten Sporen von Rhizopus oryzae ATCC 9363).

Reinigen

– Das Sorghum wird gewaschen, indem 6 Liter Wasser pro Kilogramm Sorghum verwendet werden und das überschüssige Wasser entfernt wird.

Einweichen

- Das Einweichen wurde mit einer Basis von 2 kg mit einem Gesamtverhältnis von Wasser (Leitungswasser) zu Luft von 1,5 : 1 durchgeführt;
- Es wurden 2 Fermenter (Bioflo III, New Brunswick Scientific) verwendet, in die eine perforierte Platte platziert wurde;
- Die Temperatur wurde nur während der Befeuchtungsstufen kontrolliert; während der Ruhephasen an der Luft konnte das System Raumtemperatur ($\pm 20^\circ\text{C}$) annehmen;
- Das Sorghum wurde während des gesamten Einweichzeitraums belüftet (2 Liter sterile Luft pro Minute);
- Das Einweichen erfolgte durch Eintauchen anhand des folgenden Schemas:

	Temperatur ($^\circ\text{ C}$)	Dauer (Std.)
Erste Befeuchtungsstufe	28	10 : 00
Erste Ruhephase an der Luft	20	4 : 00
Zweite Befeuchtungsstufe	28	10 : 00
Zweite Ruhephase an der Luft	20	4 : 00
Dritte Befeuchtungsstufe	28	10 : 00
Dritte Ruhephase an der Luft	20	4 : 00

Zugabe der mikrobiellen Kulturen

– Während des Einweichens wurde das Wasser der ersten Befeuchtungsstufe mit 1×10^4 aktivierten Sporen (1) pro Gramm luftgetrocknetes Sorghum angeimpft (D7);

Keimung

– Die Keimung von ± 460 g eingeweichtem Sorghum wurde in einem zylindrischen Behälter mit perforiertem Deckel bei einer Temperatur von 28°C über 4 Tage hinweg durchgeführt.

- Die Luftzufuhr erfolgte über natürliche Diffusion.
- Die Behälter wurden langsam auf einem elektronisch gesteuerten Rollsystem (Cellroll®, Tecnorama) gerollt, d. h. alle zwei Stunden wurden die Behälter 15 Minuten lang bei 1 Umdrehung pro Minute gerollt.

Darren

- Wie in Beispiel 1 beschrieben.

4. Analyseverfahren und Ergebnisse

[0076] Diese waren wie in Beispiel 1 beschrieben (4. Analyseverfahren und Ergebnisse).

	Klassisches Mälzverfahren (A7)	Erfindungsgemäßes Mälzverfahren (D7)
β -Glucanase-Aktivität	98	991
Xylanase-Aktivität	524,72	413,48

Beispiel 8: Brotherstellung

[0077] Die Funktionsfähigkeit des in Beispiel 6 beschriebenen Weizenmalzes (A6: Klassisches Mälzverfahren; D6: Erfindungsgemäßes Mälzverfahren) wurden in einem 100 g-Verfahren verglichen, das von Finney, K. F., An optimised straight-dough breadmaking method after 44 years, Cereal Chemistry 61, S. 20–27 (2984), beschrieben worden ist. In dem Rezept haben wir ein im Handel erhältliches Weizenmehl, 6,0% Zucker, 3,0% Crisco (Crisco, Procter and Gamble, Cincinnati, OH, USA), 1,5% Salz und 2,5% Hefe (Bruggeman, Belgien) verwendet. Die Malzsorten wurden in Konzentrationen im Bereich von 0 bis 0,25 getestet und ersetzten ein entsprechendes Gewicht an Mehl.

Analyseverfahren und Ergebnisse

[0078] Die spezifischen Volumina der Brote (d. h. das Volumen in ml pro Gewicht in g des Brotes) wurden anhand einer Rapssaat-Verdrängung bestimmt und die Brotkrumen wurden untersucht. Es wurde deutlich beobachtet, dass das erfundungsgemäße Malz das Volumen des Brotes viel wirksamer erhöhen konnte, als das Malz, das im klassischen Mälzverfahren hergestellt worden ist. Gleichzeitig fanden wir keine wesentlichen Unterschiede in Bezug auf die Krumenstruktur der Brote, die entweder mit dem erfundungsgemäßen Malz oder mit dem Malz aus dem klassischen Verfahren hergestellt worden waren.

	Klassisches Malz (A6)	Erfindungsgemäßes Malz (D6)
Zugegebene prozentuale Menge an Malz (%)	Spezifisches Brotvolumen (ml/g)	Spezifisches Brotvolumen (ml/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

[0079] Die vorliegende Erfindung umfasst daher den Vorgang der Herstellung von Brot, das im Vergleich zu Brot mit bekanntem Malz ein um 3% höheres Brotvolumen aufweist.

Bezugsquellen

- Thom, C. and Church, M. B., 1926, *The Aspergilli*, Williams and Wilkins, Baltimore.
- Thom, C. and Raper, K. B., 1945, *A Manual of the Aspergilli*, Williams and Wilkins, Baltimore.
- Raper, K. B. and Fennel, D. I., 1965, *The Genus Aspergillus*, Williams and Wilkins, Baltimore.
- Haffmans B. V., Marinus Dammeweg 30, Postbus 3150 5902 RD Venlo Holland, The Netherlands.

Patentansprüche

1. Verfahren für die Herstellung von gemälztem Getreide, umfassend eine oder mehrere Befeuchtungsstufen bei einer Temperatur von 5 bis 30°C, bis das Material einen Feuchtigkeitsgehalt von 20 bis 60 Gew.-% hat, wobei das befeuchtete und gekeimte Getreide nach einer Keimdauer von 2 bis 7 Tagen bei einer Temperatur von 10 bis 30°C durch Erhöhen der Temperatur auf Werte von 40 bis 150°C gedarrt wird, bis das Material einen Feuchtigkeitsgehalt von 2 bis 15 Gew.-% hat, und wobei eine oder mehr mikrobielle Kulturen, ausgewählt aus der Gruppe umfassend ein Bakterium oder mehrere Bakterien und/oder einen Pilz oder mehrere Pilze ein- oder mehrmals zugegeben werden, **dadurch gekennzeichnet**, dass mindestens eine der besagten mikrobiellen Kulturen mithilfe aktivierter Sporen inkuliert wird, wobei die Größe der besagten aktivierten Sporen gegenüber dem Ruhestadium um einen Faktor 1,2 bis 10 erhöht ist und/oder pro Spore ein Keimschlauch oder mehrere Keimschläuche vorhanden sind.

2. Verfahren nach Anspruch 1 für die Herstellung von gemälzter Gerste, wobei die Bakterien ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus *Micrococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Bifidobacterium* spp., *Streptomyces* spp., *Bacillus* spp., *Sporolactobacillus* spp., *Acetobacter* spp., *Agrobacterium* spp., *Alcaligenes* spp., *Pseudomonas* spp., *Gluconobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Erwinia* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp.

3. Verfahren nach Anspruch 1 für die Herstellung von gemälzter Gerste, wobei die Pilze ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus *Ascomycota*, *Dothideales*, *Mycosphaerellaceae*, *Mycosphaerella* spp., *Venturiaceae*, *Venturia* spp., *Eurotiales*, *Monascaceae*, *Monascus* spp., *Trichocomaceae*, *Emericilla* spp., *Euroteum* spp., *Eupenicillium* spp., *Neosartorya* spp., *Talaromyces* spp., *Hypocreales*, *Hypocreaceae*, *Hypocreopsis* spp., *Saccharomycetales*, *Dipodascaceae*, *Dipodascus* spp., *Galactomyces* spp., *Endomycetaceae*, *Endomyces* spp., *Metschnikowiaceae*, *Guilliermondella* spp., *Saccharomyctaceae*, *Debaryomyces* spp., *Dekkera* spp., *Pichia* spp., *Kluyveromyces* spp., *Saccharomyces* spp., *Torulaspora* spp., *Zygosaccharomyces* spp., *Saccharomycodaceae*, *Hanseniaspora* spp., *Schizosaccharomycetales*, *Schizosaccharomyctaceae*, *Schizosaccharomyces* spp., *Sordariales*, *Chaetomiaceae*, *Chaetomium* spp., *Sordariaceae*, *Neurospora* spp., *Zygomycota*, *Mucorales*, *Mucoraceae*, *Absidia* spp., *Amylomyces* spp., *Rhizomucor* spp., *Actinomucor* spp., *Thermomucor* spp., *Chlamydomucor* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Mitosporen*, *Aureobasidium* spp., *Acremonium* spp., *Cercospora* spp., *Epicoccum* spp., *Monilia* spp., *Mycoderma* spp., *Candida* spp., *Rhodotorula* spp., *Torulopsis* spp., *Geotrichum* spp., *Cladosporium* spp., *Trichoderma* spp., *Oidium* spp., *Alternaria* spp., *Helminthosporium* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp.

4. Verfahren nach Anspruch 1 für die Herstellung von gemälztem Getreide, bei dem es sich nicht um gemälzte Gerste handelt, wobei die Bakterien ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus *Micrococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Bifidobacterium* spp., *Streptomyces* spp., *Bacillus* spp., *Sporolactobacillus* spp., *Acetobacter* spp., *Agrobacterium* spp., *Alcaligenes* spp., *Pseudomonas* spp., *Gluconobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Erwinia* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp.

5. Verfahren nach Anspruch 1 für die Herstellung von gemälztem Getreide, bei dem es sich nicht um gemälzte Gerste handelt, wobei die Pilze ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus *Ascomycota*, *Dothideales*, *Mycosphaerellaceae*, *Mycosphaerella* spp., *Venturiaceae*, *Venturia* spp., *Eurotiales*, *Monascaceae*, *Monascus* spp., *Trichocomaceae*, *Emericilla* spp., *Euroteum* spp., *Eupenicillium* spp., *Neosartorya* spp., *Talaromyces* spp., *Hypocreales*, *Hypocreaceae*, *Hypocreopsis* spp., *Saccharomycetales*, *Dipodascaceae*, *Dipodascus* spp., *Galactomyces* spp., *Endomycetaceae*, *Endomyces* spp., *Metschnikowiaceae*, *Guilliermondella* spp., *Saccharomyctaceae*, *Debaryomyces* spp., *Dekkera* spp., *Pichia* spp., *Kluyveromyces* spp., *Saccharomyces* spp., *Torulaspora* spp., *Zygosaccharomyces* spp., *Saccharomycodaceae*, *Hanseniaspora* spp., *Schizosaccharomycetales*, *Schizosaccharomyctaceae*, *Schizosaccharomyces* spp., *Sordariales*, *Chaetomiaceae*, *Chaetomium* spp., *Sordariaceae*, *Neurospora* spp., *Zygomycota*, *Mucorales*, *Mucoraceae*, *Absidia* spp., *Amylomyces* spp., *Rhizomucor* spp., *Actinomucor* spp., *Thermomucor* spp., *Chlamydomucor* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus*

spp., Mitosporen, Aureobasidium spp., Acremonium spp., Cercospora spp., Epicoccum spp., Monilia spp., Mycoderma spp., Candida spp., Rhodotorula spp., Torulopsis spp., Geotrichum spp., Cladosporium spp., Trichoderma spp., Oidium spp., Alternaria spp., Helminthosporium spp., Aspergillus spp., Penicillium spp.

6. Verfahren nach irgendeinem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Befeuchtungsschritt ein Einweichschritt ist und die Gesamtdauer des Eintauchens in Wasser während des Einweichschrittes 30 Stunden nicht überschreitet oder wobei das Darren mehr als zwei Temperaturschritte umfasst und wobei die mikrobielle Kultur Rhizopus spp., Pseudomonas spp. und/oder Aspergillus spp. umfasst.

7. Verfahren nach Anspruch 6, wobei die Gesamtdauer des Eintauchens in Wasser während des Einweichschrittes zwischen 10 und 25 Stunden ist.

8. Verfahren nach Anspruch 6 oder 7, wobei Rhizopus spp. Rhizopus oryzae ist.

9. Verfahren nach Anspruch 8, wobei Rhizopus oryzae Rhizopus oryzae Stamm ATCC 9363 ist.

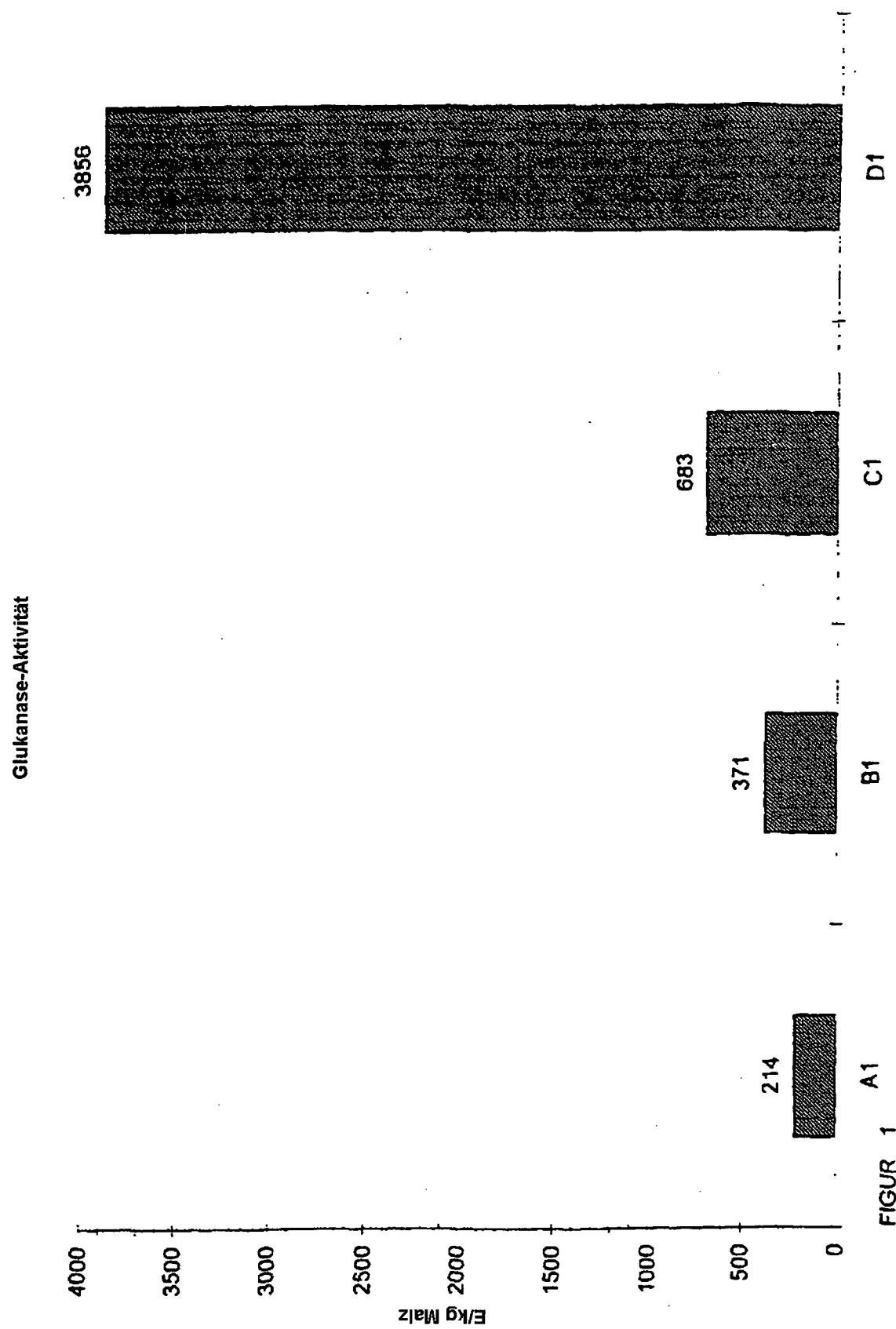
10. Verfahren nach Anspruch 6 oder 7, wobei Aspergillus spp. Aspergillus oryzae ist.

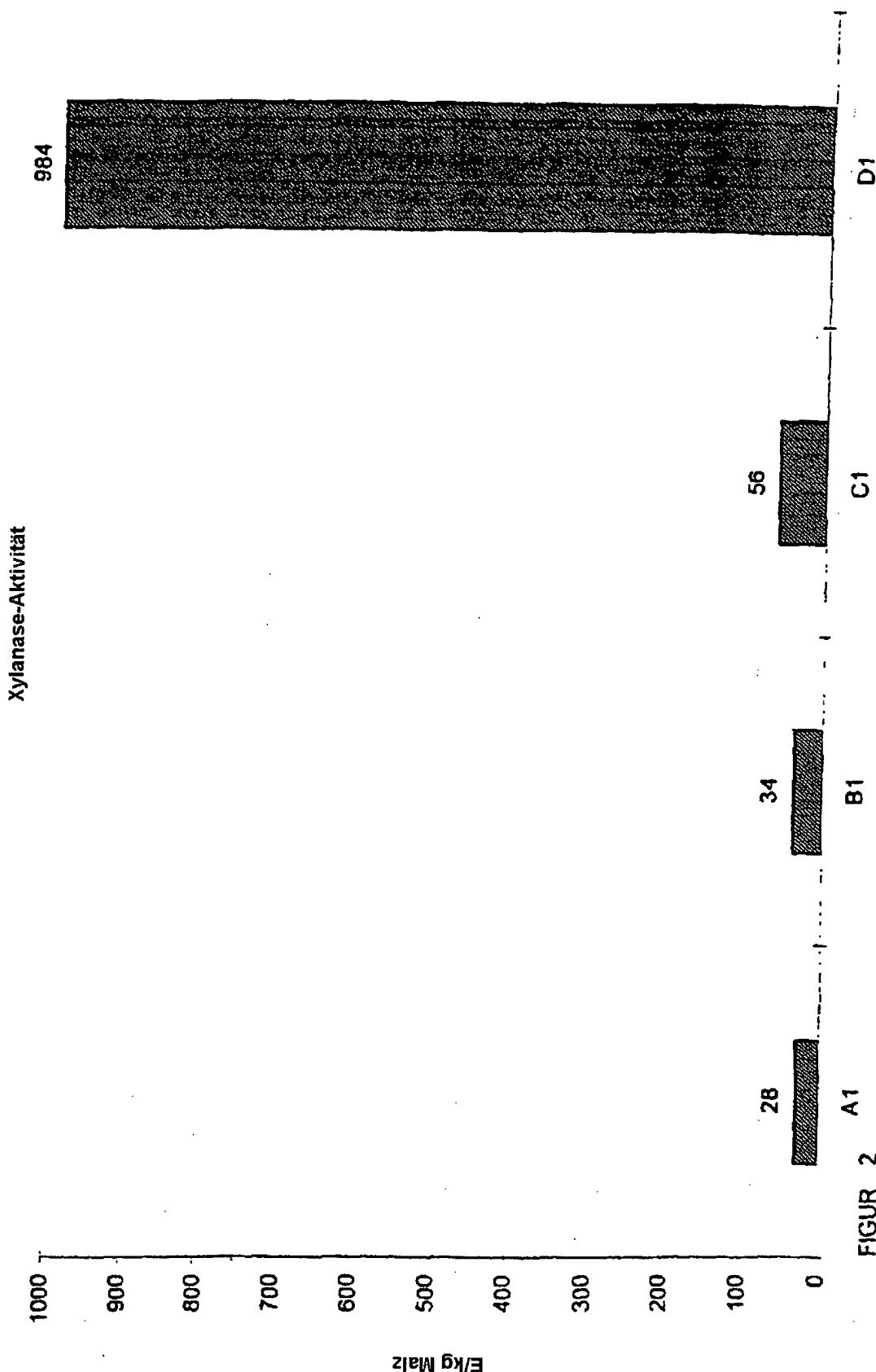
11. Verfahren nach Anspruch 10, wobei Aspergillus oryzae Aspergillus oryzae Stamm ATCC 14156 ist.

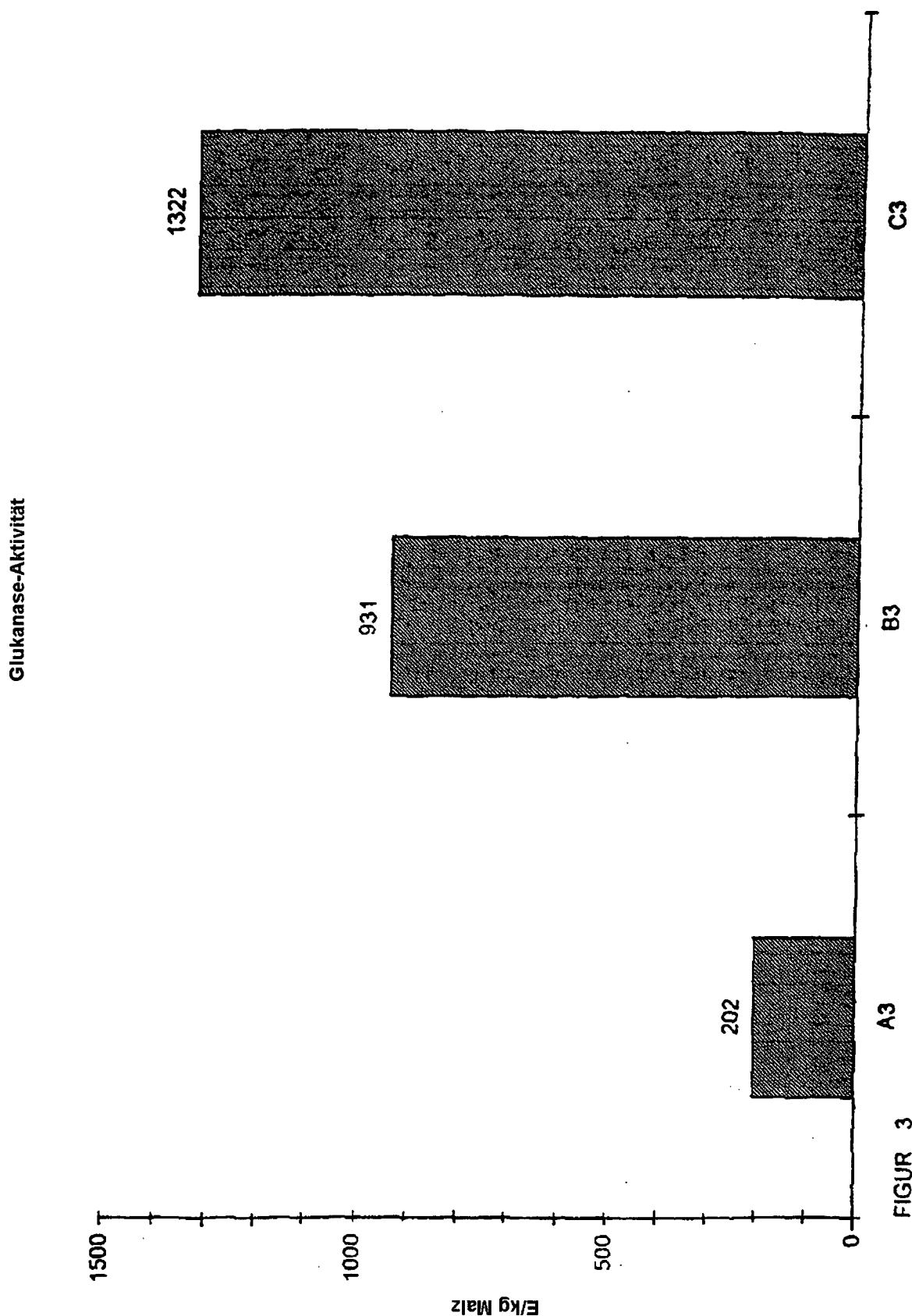
12. Verfahren nach irgendeinem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das besagte Getreide desinfiziert ist.

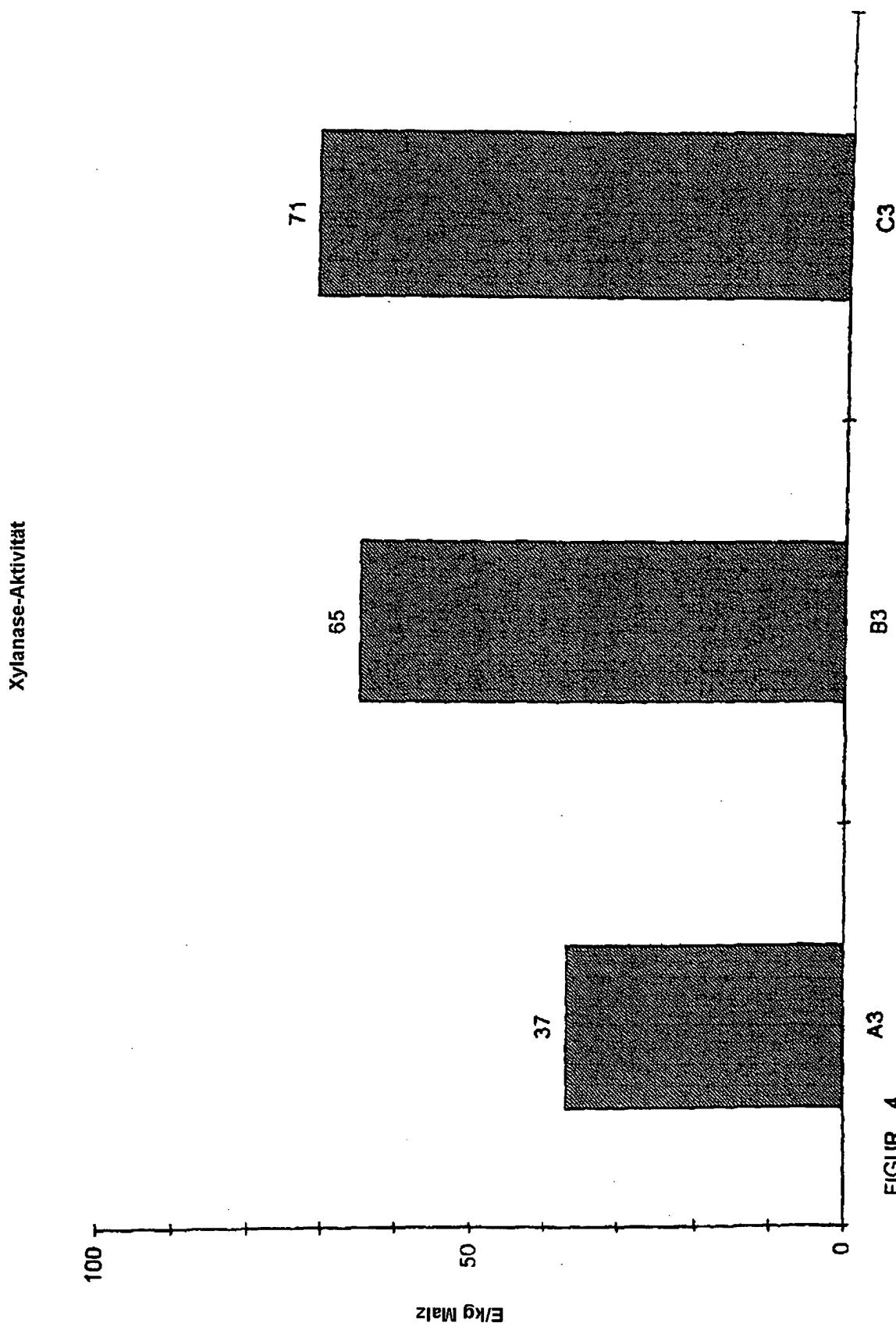
Es folgen 5 Blatt Zeichnungen

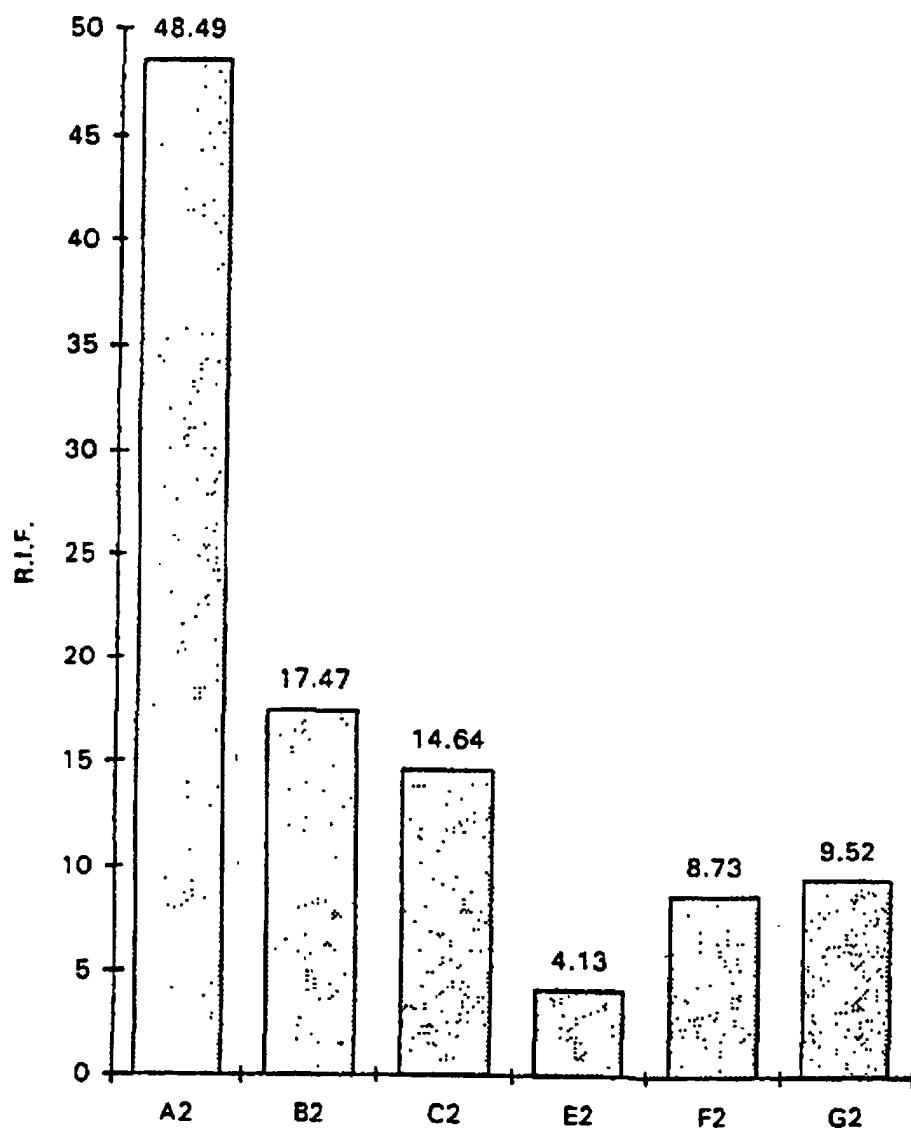
Anhängende Zeichnungen











FIGUR 5