

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4040101号
(P4040101)

(45) 発行日 平成20年1月30日 (2008. 1. 30)

(24) 登録日 平成19年11月16日 (2007. 11. 16)

(51) Int. Cl.

F 1

C 1 2 C 1/00 (2006. 01)

A 2 1 D 2/00 (2006. 01)

A 2 3 K 1/14 (2006. 01)

C 1 2 N 1/14 (2006. 01)

C 1 2 N 1/20 (2006. 01)

C 1 2 C 1/00

A 2 1 D 2/00

A 2 3 K 1/14

C 1 2 N 1/14

C 1 2 N 1/20

A

A

請求項の数 9 (全 29 頁)

(21) 出願番号 特願平10-506388
 (86) (22) 出願日 平成9年7月23日 (1997. 7. 23)
 (65) 公表番号 特表2000-516803 (P2000-516803A)
 (43) 公表日 平成12年12月19日 (2000. 12. 19)
 (86) 国際出願番号 PCT/BE1997/000086
 (87) 国際公開番号 WO1998/003627
 (87) 国際公開日 平成10年1月29日 (1998. 1. 29)
 審査請求日 平成16年7月21日 (2004. 7. 21)
 (31) 優先権主張番号 PCT/BE96/00077
 (32) 優先日 平成8年7月23日 (1996. 7. 23)
 (33) 優先権主張国 世界知的所有権機関 (WO)

(73) 特許権者

カルギル フランス ナームロゼ ベンノ
 ートチャップ
 ベルギー, ペー 3 0 2 0 エラン, ズィー
 プストラート, 1 5 5

(74) 代理人

弁理士 風早 信昭

(72) 発明者

コッパン, テオ
 ベルギー, ペー 3 1 2 0 トレメロ, ビュ
 ウストラート 3 7

(72) 発明者

デルクール, ジャン
 ベルギー, ペー 3 0 0 1 エヴェルリー,
 カスタン ジェラーン 1 4

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 麦芽化穀物の製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

原料穀物の含水量が 2 0 ~ 6 0 重量 % になるまで、5 ~ 3 0 の温度で行う一つ以上の湿潤段階、1 0 ~ 3 0 の温度で、2 ~ 7 日間発芽処理して得られる穀物を、含水量が 2 ~ 1 5 重量 % になるまで、4 0 ~ 1 5 0 でキルニングを行う段階、次いでキルニングした前記発芽処理物にリゾプス属およびアスペルギルス属から選択される一種以上の真菌の発芽胞子を含む培養物を、1 回以上添加する段階を含む麦芽化もしくは発芽化穀物の製造方法であって、前記培養物が活性化胞子によって接種され、前記活性化胞子の大きさが休眠時の大きさの 1 . 2 ~ 1 0 倍まで大きくなっておりおよび / または一胞子当たり一つ以上の発芽管を有していることを特徴とする方法。

【請求項 2】

胞子の活性化が、下記の処理：

- (a) 湿潤および / または乾燥のサイクル、
- (b) 栄養供給源の添加または胞子要素の添加、
- (c) 温度の変化に対する暴露、
- (d) p H の変化に対する暴露、

の少なくとも一つまたは組合せを含んでいる請求の範囲 1 に記載の方法。

【請求項 3】

含水させるステップが浸漬ステップであり、そして浸漬ステップ中、水に浸漬する時間の合計が 3 0 時間を超えず、またはキルニング工程が三つ以上の温度ステップを含む請求の

範囲 1 ~ 2 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 4】

浸漬ステップが 10 ~ 25 時間行われる請求の範囲 3 に記載の方法。

【請求項 5】

リゾプス属の種がリゾプス・オリゼである請求の範囲 1 ~ 4 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 6】

リゾプス・オリゼが、リゾプス・オリゼの菌株 ATCC 9363 である請求の範囲 5 に記載の方法。

【請求項 7】

アスペルギルス属の種がアスペルギルス・オリゼである請求の範囲 1 ~ 4 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 8】

アスペルギルス・オリゼが、アスペルギルス・オリゼの菌株 ATCC 14156 である請求の範囲 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記穀物類が消毒される請求の範囲 1 ~ 8 のいずれか一つに記載の方法。

【発明の詳細な説明】

発明の技術分野

本発明は、麦芽化穀物の改良製造方法、得られた改良麦芽化穀物およびその使用、特に、嗜好飲料類の生物工学的製造方法、または食品 / 飼料の用途、洗濯システムと洗剤システム、紙とパルプの生産技術および漂白用途での使用に関する。

発明の技術上の背景

大麦、小麦、ライ麦、トウモロコシ、エンバク、米、アワ、ライコムギおよびモロコシなどの穀物は嗜好飲料類を製造するのに使用されている。これらの穀物は、ほとんどの場合、その高められた酵素力を利用するため麦芽化法に付されている。

伝統的な麦芽化法では、穀物の水分を、浸漬および / または噴霧によって高くし、得られた高水分の穀物を発芽させる。適正な生理状態に到達した後、その穀物を乾燥ステップにかけることが好ましい。以後、用語“浸漬”は水分レベルの増大を意味し、一方、用語“発芽”は、植物生理学における方式で使用される。乾燥操作はキルニング (kilning) と呼ばれ、そして用語“麦芽化 (malting)”には、大麦 (または他の穀物類) を大麦麦芽 (または他の穀物の麦芽) に変換するのに必要なすべての操作が含まれている。

得られる麦芽の品質は、ほとんど、麦芽化工程中に生成する植物の内因性酵素の存在によって決定される。例えば、麦芽製造用原料として使用される大麦のような穀物の場合、その種類、微生物叢の組成および農業の常法のような環境因子が麦芽の品質に影響する。栽培中および貯蔵中に、穀物は細菌および真菌に汚染される。麦芽化工場では、空気、水および装置がいずれも無菌ではないので、その湿度、pH および温度の条件は微生物集団の増殖には好都合である。

変わりやすい穀物の品質と、麦芽化の工程中の欠乏症を埋め合わせる方法がないことによって麦芽の品質が変わりやすくなっている。このため、多くの場合、特定の酵素力が不安定なものと細胞壁の分解が不十分なことに対処しなければならない。このこととは別に、微生物の安全性に関する問題が起こることがある。麦芽のこれらの欠点のため、ビールの生産時に、麦汁の濾過が不十分であるなどの品質上の問題が起こる。

技術分野の現状

大麦が麦芽化する間、その微生物叢が発育し、麦芽と嗜好飲料類の品質が内因性微生物の活動によって影響を受ける。

他の生物工学的方法と同様に、麦芽化工程中、スターター培養物を添加することによって、麦芽の品質の態様を最適化する試みがなされてきた (Boivin, P. および Malanda, M., Influence of Starter Cultures in Malting on the Microflora Development and Malt Quality, EBC, Proceedings of the 24th Congress, 95 ~ 102 頁 1993 年; Haikara

10

20

30

40

50

, A.ら, Lactic Starter Cultures in Malting-A Novel Solution to Gushing Problems, EBC, Proceedings of the 24th Congress, 163 ~ 172 頁 (1993年)。

ゲオトリクム・カンジダム (*Geotrichum candidum*) の胞子を前記浸漬水に添加すると、望ましくない微生物の発育が阻害されかつ得られた麦芽で製造した麦汁の濾過時間が短くなる。ゲオトリクム・カンジダムで処理すると、フザリウム属真菌類の種 (*Fusarium* spp.) による真菌毒素の生成も阻害される。

麦芽化中での微生物叢に対する、ラクトバシラス・プランタルム (*Lactobacillus plantarum*) およびペディオコッカス・ペントサシウス (*Pediococcus pentosaceus*) の作用を試験した結果、これらの培養物は、フザリウム属真菌の増殖を抑制してガッシング (gushing) を防止するので、天然の防腐剤として作用することが発見された。

国際特許願公開第 WO 94 / 29430 号には、麦芽化穀物の特性を改善する方法が記載されており、この場合、糸状菌、酵母または細菌を含有するスターター培養物を、前記穀物の麦芽化を行う前および/または麦芽化中に添加する。

使用される好ましい細菌は、各種の乳酸桿菌のような乳酸産生細菌であり、例えばラクトバシラス・カゼイ (*Lactobacillus casei*)、ラクトバシラス・カゼイ変種ラムノサス (*Lactobacillus casei* var *rhannosus*)、ラクトバシラス・ファーマンタム (*Lactobacillus fermentum*)、ラクトバシラス・プランタルム (*Lactobacillus plantarum*) およびラクトバシラス・ブレビス (*Lactobacillus brevis*)、ならびにペディオコッカス (*Pediococcus*) 属の細菌、例えばペディオコッカス・アシディラクチシ (*Pediococcus acidilacticus*) がある。

好ましい糸状菌は、アスペルギルス (*Aspergillus*) 属およびゲオトリクム (*Geotrichum*) 属の糸状菌、例えばゲオトリクム・カンジダムである。

国際特許願公開第 WO 94 / 16053 号には、望ましくない微生物の種の増殖を阻止するための穀物の処理法が記載されており、この場合、発芽過程中、穀物に、乳酸菌製剤すなわち乳酸菌が産生する製剤が接種される。好ましい細菌は、ラクトコッカス (*Lactococcus*)、リユーコノストク (*Leuconostoc*)、ペディオコッカス (*Pediococcus*) またはラクトバシラス (*Lactobacillus*) の属に属する乳酸菌である。

英国特許願第 GB - 1211779 号は、麦芽化工程を自動的に制御・調節する方法を提供している。この特許願によれば、麦芽化工程の自動的な制御・調節に成功するのに必要なパラメーターを決定することができる。

欧州醸造所会議の会報 (the Proceedings of the European Brewery Convention)、16 巻、1977 年、245 ~ 254 頁には、麦芽の品質に対するいくつかの真菌の作用が記載されており、さらに具体的に述べると、大麦の麦芽が真菌に汚染されると、ビールにガッシングなどの品質変化をもたらしたことが記載されている。また、これら真菌の胞子についても言及している。

ドイツ特許願第 DE - 3028360 号は、トウモロコシから麦芽を製造する方法を開示している。

しかし、本発明によって製造された麦芽は、先に述べたどの文献にしたがって製造されたものより品質が優れている。このことは、麦芽と麦汁のグルカナーゼとキシラナーゼの活性が高く、かつ - グルカンの含量が低いことおよび欧州醸造家会議の分析データが改善されていることによって実証されている。

発明の目的

本発明の目的は、麦芽化穀物の改良製造方法および改良された麦芽化穀物を提供することである。

本発明の主目的は、麦芽化穀物の改良製造方法、および醸造特性が改良された麦芽化穀物、特に、酵素力と微生物の安全性の面で品質が改善された麦芽化穀物を提供することである。

他の目的は、使用される原料による品質の変動が少ない方法と改良された麦芽化穀物を提供することである。

本発明のさらに他の目的は、嗜好飲料類の生物工学的製造方法を改善し、そして前記の得

10

20

30

40

50

られる嗜好飲料の特性を改善することができる麦芽化穀物を得ることである。

本発明の他の目的は、改良された特性を有する麦芽化穀物を、ベーカリー産業のような食品技術分野にパン添加物として、高い効率の動物飼料を製造する飼料技術分野に、紙およびパルプの技術分野に漂白剤として、または洗濯液、洗濯粉末、皿洗浄用の液体と粉末、柔軟剤、クリーナーおよび酵素洗浄剤の原料としてのせっけんバーのような洗濯システムおよび洗剤システムに使用することである。

発明の要約

本発明は、さらに具体的に述べると以下の麦芽化穀物の製造方法に関する。すなわち、浸漬ステップが、原料の水分が20～60重量%、好ましくは38～47重量%になるまで、5～30、好ましくは10～20の温度で行う一つ以上の湿潤段階を含み；10～30、好ましくは14～18の温度で、2～7日間、好ましくは3～6日間の発芽期間の後、浸漬して発芽させた穀物を、好ましくは、原料の水分が2～15重量%、好ましくは4～7重量%になるまで、温度を40～150まで、好ましくは45～85まで上昇させてキルニングを行い；および一種以上の細菌および/または一種以上の真菌からなる群から選択される一種以上の微生物培養物を、前記穀物の麦芽化工程の前もしくは該工程中もしくは該工程の後、1回以上添加し；そして前記微生物培養物の少なくとも一つが活性化胞子によって接種され、前記活性化胞子は休眠時の大きさより有意に膨潤し、その胞子の大きさは、休眠時の大きさの好ましくは1.2～10倍になりおよび/または一胞子当たり一つ以上の発芽管を有している方法に関する。

本願に用いられる用語“真菌”には、糸状菌と酵母が含まれている。

したがって、上記の方法には、麦芽化の条件に広い融通性がある。

麦芽化大麦を製造するのに用いる前記細菌は、好ましくは、以下の細菌から選択される。すなわち、ミクロコッカス属の種 (*Micrococcus* spp.)；ストレプトコッカス属の種 (*Streptococcus* spp.)；リューコノストク属の種 (*Leuconostoc* spp.)；ペディオコッカス属の種 (*Pediococcus* spp.) 優先的にペディオコッカス・ハロフィルス (*Pediococcus halophilus*)、ペディオコッカス・セレビスエ (*Pediococcus cerevisiae*)、ペディオコッカス・ダムノサス (*Pediococcus damnosus*)、ペディオコッカス・ヘモフィルス (*Pediococcus hemophilus*)、ペディオコッカス・パルブルス (*Pediococcus parvulus*)、ペディオコッカス・ソイエ (*Pediococcus soyae*)；ラクトコッカス属の種 (*Lactococcus* spp.)；ラクトバシラス属の種 (*Lactobacillus* spp.) 優先的に、ラクトバシラス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバシラス・アミロボルス (*Lactobacillus amylovorus*)、ラクトバシラス・ババリクス (*Lactobacillus bavaricus*)、ラクトバシラス・ビフェルメンタンス (*Lactobacillus bif fermentans*)、ラクトバシラス・ブレビス変種リンドネリ (*Lactobacillus brevis* var *lindneri*)、ラクトバシラス・カゼイ変種カゼイ (*Lactobacillus casei* var *casei*)、ラクトバシラス・デルブリュッキイ (*Lactobacillus delbrueckii*)、ラクトバシラス・デルブリュッキイ変種ラクチス (*Lactobacillus delbrueckii* var *lactis*)、ラクトバシラス・デルブリュッキイ変種ブルガリクス (*Lactobacillus delbrueckii* var *bulgaricus*)、ラクトバシラス・フェルメンティ (*Lactobacillus fermenti*)、ラクトバシラス・ガッセリイ (*Lactobacillus gasserii*)、ラクトバシラス・ヘルベティクス (*Lactobacillus helveticus*)、ラクトバシラス・ヒルガルディ (*Lactobacillus hilgardii*)、ラクトバシラス・レンテリイ (*Lactobacillus renterrii*)、ラクトバシラス・サケ

(*Lactobacillus saké*)、

ラクトバシラス・サチボリウス (*Lactobacillus sativoris*)、ラクトバシラス・クレモリス (*Lactobacillus cremoris*)、ラクトバシラス・ケフィール (*Lactobacillus kefir*)、ラクトバシラス・ペントセティクス (*Lactobacillus pentoceticus*)、ラクトバシラス・セロピオサス (*Lactobacillus cellobiosus*)、ラクトバシラス・ブルキセレンシス (*Lactobacillus bruxellensis*)、ラクトバシラス・ブクネリイ (*Lactobacillus buchnerii*)、ラクトバシラス・コリネフォルミス (*Lactobacillus coryneformis*)、ラクトバシラス・コンフサス (*Lactobacillus confusus*)、ラクトバシラス・フロレンチナス (

Lactobacillus florentinus)、ラクトバシラス・ビリデッセンス (*Lactobacillus viridescens*) ; コリネバクテリウム属の種 (*Corynebacterium* spp.) ; プロピオニバクテリウム属の種 (*Propionibacterium* spp.) ; ビフィドバクテリウム属の種 (*Bifidobacterium* spp.) ; ストレプトマイセス属の種 (*Streptomyces* spp.) ; バシラス属の種 (*Bacillus* spp.) ; スポロラクトバシラス属の種 (*Sporolactobacillus* spp.) ; アセトバクター属の種 (*Acetobacter* spp.) ; アグロバクテリウム属の種 (*Agrobacterium* spp.) ; アルカリゲネス属の種 (*Alcaligenes* spp.) ; シュードモナス属の種 (*Pseudomonas* spp.) 優先的にシュードモナス・アミロフィリア (*Pseudomonas amylophilica*)、シュードモナス・エルジノーサ (*Pseudomonas aeruginosa*)、シュードモナス・ココベネナンス (*Pseudomonas cocovenenans*)、シュードモナス・メキシカーナ (*Pseudomonas mexicana*)、シュードモナス・シュードマレイ (*Pseudomonas pseudomallei*) ; グルコノバクター属の種 (*Gluconobacter* spp.) ; エンテロバクター属の種 (*Enterobacter* spp.) ; エルウィニア属の種 (*Erwinia* spp.) ; クレブシエラ属の種 (*Klebsiella* spp.) ; プロテウス属の種 (*Proteus* spp.) を含む群から選択される。

麦芽化大麦を製造するのに用いる真菌は、好ましくは、以下のものを含む群 (DL Hawksworth, PM Kirk, BC SuttonおよびDebit-note Pegler編, Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi, 第8版, 1995年, 632頁, Cab Internationalに記載されている属の真菌) から選択される。すなわち、アスコマイコータ (Ascomycota) 優先的にドチディアレス (Dothideales) 優先的にマイコスフェレラセエ (Mycosphaerellaceae) 優先的にマイコスフェレラ属の種 (*Mycosphaerella* spp.) ; ベンチュリアセエ (Venturiaceae) 優先的にベンチュリア属の種 (*Venturia* spp.) ; ユーロチアレス (Eurotiales) 優先的にモナスカセエ (Monascaceae) 優先的にモナスクス属の種 (*Monascus* spp.) ; トリココマセエ (Trichocomaceae) 優先的にエメリシラ属の種 (*Emericella* spp.) ; ユーロチウム属の種 (*Eurotium* spp.) ; ユーペニシリウム属の種 (*Eupenicillium* spp.) ; ネオサルトリア属の種 (*Neosartorya* spp.) ; タラロマイセス属の種 (*Talaromyces* spp.) ; ハイポクレアレス (Hypocreales) 優先的にハイポクレセエ (Hypocreaceae) 優先的にハイポクレア属の種 (*Hypocrea* spp.) ; サッカロミセタレス (Saccharomycetales) 優先的にディポダスカセエ (Dipodascaceae) 優先的にディポダスクス属の種 (*Dipodascus* spp.) ; ガラクトマイセス属の種 (*Galactomyces* spp.) ; エンドマイセタセエ (Endomycetaceae) 優先的にエンドマイセス属の種 (*Endomyces* spp.) ; メトシュニコウイアセエ (Metschnikowiaceae) 優先的にギリエルモンデラ属の種 (*Guilliermondella* spp.) ; サッカロマイセタセエ (Saccharomycetaceae) 優先的にデバリオミセス属の種 (*Debaryomyces* spp.) ; デッケラ属の種 (*Dekkera* spp.) ; ピキア属の種 (*Pichia* spp.) ; クルイペロマイセス属の種 (*Kluyveromyces* spp.) ; サッカロミセス属の種 (*Saccharomyces* spp.) ; トルラスポラ属の種 (*Torulaspora* spp.) ; ジゴサッカロミセス属の種 (*Zygosaccharomyces* spp.) ; サッカロミコダセエ (Saccharomycodaceae) 優先的にハンセニアスポラ属の種 (*Hanseniaspora* spp.) ; シゾサッカロミセタレス (Schizosaccharomycetales) 優先的にシゾサッカロミセタセエ (Schizosaccharomycetaceae) 優先的にシゾサッカロミセス属の種 (*Schizosaccharomyces* spp.) ; ソルダリアレス (Sordariales) 優先的にケトミアセエ (Chaetomiaceae) 優先的にケトミウム属の種 (*Chaetomium* spp.) ; ソルダリアセエ (Sordariaceae) 優先的にニューロスポラ属の種 (*Neurospora* spp.) ; ジゴマイコータ (Zygomycota) 優先的にムーコラレス (Mucorales) 優先的にムーコラセエ (Mucoraceae) 優先的にアブシディア属の種 (*Absidia* spp.) ; アミロミセス属の種 (*Amylomyces* spp.) ; リゾムーコル属の種 (*Rhizomucor* spp.) ; アクチノムーコル属の種 (*Actinomucor* spp.) ; テルモムーコル属の種 (*Thermomucor* spp.) ; クラミドムーコル属の種 (*Chlamydomucor* spp.) ; ムーコル属の種 (*Mucor* spp.) 優先的にムーコル・サーシネロイデス (*Mucor circinelloides*)、ムーコル・グリセシアヌス (*Mucor grisecyanus*)、ムーコル・ヒエマリス (*Mucor hiemalis*)、ムーコル・インディクス (*Mucor indicus*)、ムーコル・ムセド (*Mucor mucedo*)、ムーコル・ピリホルミス (*Mucor piriformis*)、ムーコル・ブルムピウス (*Mucor plumbeus*)、ムーコル・プライニ (*Mucor praini*)、ムーコル・

10

20

30

40

50

プシルス (*Mucor pusillus*)、ムーコル・シルバティクス (*Mucor silvaticus*)、ムーコル・ジャバニクス (*Mucor javanicus*)、ムーコル・ラセモスス (*Mucor racemosus*)、ムーコル・ルーキシアヌス (*Mucor rouxianus*)、ムーコル・ルーキシイ (*Mucor rouxii*)、ムーコル・アロマティクス (*Mucor aromaticus*)、ムーコル・フラブス (*Mucor flavus*)、ムーコル・ミエヘイ (*Mucor miehei*)；リゾプス属の種 (*Rhizopus* spp.) 優先的にリゾプス・アルヒズス (*Rhizopus arrhizus*)、リゾプス・オリゴスボルス (*Rhizopus oligosporus*)、リゾプス・オリゼ (*Rhizopus oryzae*) 優先的に菌株 A T C C 4 8 5 8、A T C C 9 3 6 3、N R R L 1 8 9 1、N R R L 1 4 7 2、リゾプス・ストロニファー (*Rhizopus stolonifer*)、リゾプス・タイランデンシス (*Rhizopus thailandensis*)、リゾプス・ホルモサエンシス (*Rhizopus formosaensis*)、リゾプス・キネンシス (*Rhizopus chinensis*)、リゾプス・コーニイ (*Rhizopus cohnii*)、リゾプス・ジャボニクス (*Rhizopus japonicus*)、リゾプス・ノドス (*Rhizopus nodosus*)、リゾプス・デレマール (*Rhizopus delemar*)、リゾプス・アセトリヌス (*Rhizopus acetorinus*)、リゾプス・クラミドスボルス (*Rhizopus chlamydosporus*)、リゾプス・サーシナンス (*Rhizopus circinans*)、リゾプス・ジャバニクス (*Rhizopus javanicus*)、リゾプス・ペカ (*Rhizopus peka*)、リゾプス・サイトー (*Rhizopus saito*)、リゾプス・トリティシ (*Rhizopus tritici*)、リゾプス・ニベウス (*Rhizopus niveus*)、リゾプス・ミクロスボルス (*Rhizopus microsporus*)；ミトスポリック真菌類 (*Mitosporic fungi*) 優先的にオーレオバシディウム属の種 (*Aureobasidium* spp.)；アクレモニウム属の種 (*Acremonium* spp.)；セルコスポラ属の種 (*Cercospora* spp.)；エピコックム属の種 (*Epicoccum* spp.)；モニリア属の種 (*Monilia* spp.) 優先的にモニリア・カンジダ (*Monilia candida*)、モニリア・シトフィラ (*Monilia sitophila*)；マイコデルマ属の種 (*Mycoderma* spp.)；カンジダ属の種 (*Candida* spp.) 優先的にカンジダ・ディッデンシェ (*Candida diddensiae*)、カンジダ・エダックス (*Candida edax*)、カンジダ・エトケルシイ (*Candida etchellsii*)、カンジダ・ケフィール (*Candida kefir*)、カンジダ・クリセイ (*Candida krisei*)、カンジダ・ラクトーサ (*Candida lactosa*)、カンジダ・ラムビカ (*Candida lambica*)、カンジダ・メリニイ (*Candida melinii*)、カンジダ・ユチリス (*Candida utilis*)、カンジダ・ミレリ (*Candida milleri*)、カンジダ・マイコデルマ (*Candida mycoderma*)、カンジダ・パラプシローシス (*Candida parapsilosis*)、カンジダ・オブタックス (*Candida obtux*)、カンジダ・トロピカリス (*Candida tropicalis*)、カンジダ・バリダ (*Candida valida*)、カンジダ・ベルサチリス (*Candida versatilis*)、カンジダ・ギリエルモンディイ (*Candida guilliermondii*)；ロドトルラ属の種 (*Rhodotorula* spp.)；トルロプシス属の種 (*Torulopsis* spp.)；ゲオトリクム属の種 (*Geotrichum* spp.) 優先的にゲオトリクム・アミセリウム (*Geotrichum amycelium*)、ゲオトリクム・アルミラリエ (*Geotrichum armillariae*)、ゲオトリクム・アステロイデス (*Geotrichum asteroides*)、ゲオトリクム・ビプンクタツム (*Geotrichum bipunctatum*)、ゲオトリクム・ダルシツム (*Geotrichum dulcitum*)、ゲオトリクム・エリエンセ (*Geotrichum erienne*)、ゲオトリクム・フィシー (*Geotrichum fici*)、ゲオトリクム・フラボブルンニウム (*Geotrichum flavo-brunneum*)、ゲオトリクム・フラグランツ (*Geotrichum fragrans*)、ゲオトリクム・グラシレ (*Geotrichum gracile*)、ゲオトリクム・ヘリツム (*Geotrichum heritum*)、ゲオトリクム・クレバクニイ (*Geotrichum klebaknii*)、ゲオトリクム・ペニシラツム (*Geotrichum penicillatum*)、ゲオトリクム・ヒルツム (*Geotrichum hirtum*)、ゲオトリクム・シュードカンジダム (*Geotrichum pseudocandidum*)、ゲオトリクム・レクタングラツム (*Geotrichum rectangulatum*)、ゲオトリクム・スアベオレンス (*Geotrichum suaveolens*)、ゲオトリクム・バンリイエ (*Geotrichum vanryiae*)、ゲオトリクム・ロウビエリ (*Geotrichum loubieri*)、ゲオトリクム・ミクロスボルム (*Geotrichum microsporum*)；クラドスポリウム属の種 (*Cladosporium* spp.)；トリコデルマ属の種 (*Trichoderma* spp.) 優先的にトリコデルマ・ハマトム (*Trichoderma hamatum*)、トリコデルマ・ハルチアヌム (*Trichoderma harzianum*)、トリコデルマ・コニンギイ (*Trichoderma koningii*)、トリコデルマ・シュードコニンギイ (*Trichoderma pseudokoningii*)

10

20

30

40

50

、トリコデルマ・レエセイ (*Trichoderma reesei*)、トリコデルマ・ビルガツム (*Trichoderma virgatum*)、トリコデルマ・ピリデ (*Trichoderma viride*)；オイディウム属の種 (*Oidium* spp.)；アルテルナリア属の種 (*Alternaria* spp.) 優先的にアルテルナリア・アルテルナータ (*Alternaria alternata*)、アルテルナリア・テヌイス (*Alternaria tenuis*)；ヘルミントスポリウム属の種 (*Helminthosporium* spp.) 優先的にヘルミントスポリウム・グラミニウム (*Helminthosporium gramineum*)、ヘルミントスポリウム・サチブム (*Helminthosporium sativum*)、ヘルミントスポリウム・テレス (*Helminthosporium teres*)；Smith, J.E. 編 *Biotechnological handbooks*, Plenum Press 7 巻 273 頁: *Aspergillus* (1994 年) に R.A. Samson が記載しているアスペルギルス属の種 (*Aspergillus* spp.) 優先的にアスペルギルス・オクラセウス群 (*Aspergillus ochraceus* Group) (Thom & Church)、アスペルギルス・ニデュランス群 (*Aspergillus nidulans* Group) (Thom & Church)、アスペルギルス・ベルシカラー群 (*Aspergillus versicolor* Group) (Thom & Church)、アスペルギルス・ウェンティ群 (*Aspergillus wentii* Group) (Thom & Raper)、アスペルギルス・カンジダズ群 (*Aspergillus candidus* Group) (Thom & Raper)、アスペルギルス・フラブス群 (*Aspergillus flavus* Group) (Raper & Fennell)、アスペルギルス・ニガー群 (*Aspergillus niger* Group) (Thom & Church)；ペニシリウム属の種 (*Penicillium* spp.) 優先的にペニシリウム・アクレアツム (*Penicillium aculeatum*)、ペニシリウム・シトリナム (*Penicillium citrinum*)、ペニシリウム・クラビホルメ (*Penicillium claviforme*)、ペニシリウム・フニコロス (*Penicillium funiculosum*)、ペニシリウム・イタリク (*Penicillium italicum*)、ペニシリウム・ラノソーピリデ (*Penicillium lanoso-viride*)、ペニシリウム・エメルソニ (*Penicillium emersonii*)、ペニシリウム・リラシナム (*Penicillium lilacinum*)、ペニシリウム・エクスパンサム (*Penicillium expansum*) を含む群から選択される。

麦芽化大麦以外の麦芽化穀物、特に麦芽化された小麦、ライ麦、トウモロコシ、エンバク、米、アワ、ライコムギおよびモロコシを製造するのに用いる細菌は以下のものを含む群から選択される。すなわちマイクロコッカス属の種 (*Micrococcus* spp.)；ストレプトコッカス属の種 (*Streptococcus* spp.)；リュウコノストク属の種 (*Leuconostoc* spp.)；ペディオコッカス属の種 (*Pediococcus* spp.)；ラクトコッカス属の種 (*Lactococcus* spp.)；ラクトバシラス属の種 (*Lactobacillus* spp.)；コリネバクテリウム属の種 (*Corynebacterium* spp.)；プロピオニバクテリウム属の種 (*Propionibacterium* spp.)；ビフィドバクテリウム属の種 (*Bifidobacterium* spp.)；ストレプトマイセス属の種 (*Streptomyces* spp.)；バシラス属の種 (*Bacillus* spp.)；スポロラクトバシラス属の種 (*Sporolactobacillus* spp.)；アセトバクター属の種 (*Acetobacter* spp.)；アグロバクテリウム属の種 (*Agrobacterium* spp.)；アルカリゲネス属の種 (*Alcaligenes* spp.)；シュードモナス属の種 (*Pseudomonas* spp.)；グルコノバクター属の種 (*Gluconobacter* spp.)；エンテロバクター属の種 (*Enterobacter* spp.)；エルウィニア属の種 (*Erwinia* spp.)；クレブシエラ属の種 (*Klebsiella* spp.)；プロテウス属の種 (*Proteus* spp.)；またはその混合物を含む群から選択される。そして前記麦芽化大麦以外の麦芽化穀物を製造するのに用いる真菌は以下のものからなる群から選択される。すなわち、アスコマイコタ (*Ascomycota*) 優先的にドチディアレス (*Dothideales*) 優先的にマイコスフェラセエ (*Mycosphaerellaceae*) 優先的にマイコスフェラ属の種 (*Mycosphaerella* spp.)；ベンチュリアセエ (*Venturiaceae*) 優先的にベンチュリア属の種 (*Venturia* spp.)；ユーロチアレ (*Eurotiales*) 優先的にモナスカセエ (*Monascaceae*) 優先的にモナスクス属の種 (*Monascus* spp.)；トリココマセエ (*Trichocomaceae*) 優先的にエメリシラ属の種 (*Emericella* spp.)；ユーロチウム属の種 (*Eurotium* spp.)；ユーペニシリウム属の種 (*Eupenicillium* spp.)；ネオサルトリア属の種 (*Neosartorya* spp.)；タラロマイセス属の種 (*Talaromyces* spp.)；ハイポクレレス (*Hypocreales*) 優先的にハイポクレアセエ (*Hypocreaceae*) 優先的にハイポクレア属の種 (*Hypocrea* spp.)；サッカロマイセタレス (*Saccharomycetales*) 優先的にディポダスカセエ (*Dipodascaceae*) 優先的にディポダスクス属の種 (*Dipodascus* spp.)；ガラクトマイセス属の種 (*Galactomyces* spp.)

10

20

30

40

50

；エンドマイセタセエ (Endomycetaceae) 優先的にエンドマイセス属の種 (Endomyces sp.) ；メトシュニコウイアセエ (Metschnikowiaceae) 優先的にギリエルモンデラ属の種 (Guilliermondella spp.) ；サッカロミセタセエ (Saccharomycetaceae) 優先的にデバリオミセス属の種 (Debaryomyces spp.) ；デッケラ属の種 (Dekkera spp.) ；ピキア属の種 (Pichia spp.) ；クルイペロマイセス属の種 (Kluyveromyces spp.) ；サッカロミセス属の種 (Saccharomyces spp.) ；トルラスボラ属の種 (Torulaspora spp.) ；ジゴサッカロミセス属の種 (Zygosaccharomyces spp.) ；サッカロミコダセエ (Saccaromycodaceae) 優先的にハンセニアスボラ属の種 (Hanseniaspora spp.) ；シゾサッカロミセタレス (Schizosaccharomycetales) 優先的にシゾサッカロミセタセエ (Schizosaccharomycetaceae) 優先的にシゾサッカロミセス属の種 (Schizosaccharomyces spp.) ；ソルダリアレス (Sordariales) 優先的にケトミアセエ (Chaetomiaceae) 優先的にケトミウム属の種 (Chaetomium spp.) ；ソルダリアセエ (Sordariaceae) 優先的にニューロスボラ属の種 (Neurospora spp.) ；ジゴマイコータ (Zygomycota) 優先的にムーコラレス (Mucorales) 優先的にムーコラセエ (Mucoraceae) 優先的にアブシディア属の種 (Absidia spp.) ；アミロミセス属の種 (Amylomyces spp.) ；リゾムーコル属の種 (Rhizomucor spp.) ；アクチノムーコル属の種 (Actinomucor spp.) ；テルモムーコル属の種 (Thermomucor spp.) ；クラミドムーコル属の種 (Clamydomyces spp.) ；ムーコル属の種 (Mucor spp.) ；リゾプス属の種 (Rhizopus spp.) ；ミトスポリック真菌 (Mitosporic fungi) 優先的にオーレオバシディウム属の種 (Aureobasidium spp.) ；アクレモニウム属の種 (Acremonium spp.) ；セルコスボラ属の種 (Cercospora spp.) ；エピコックム属の種 (Epicoccum spp.) ；モニリア属の種 (Monilia spp.) ；マイコデルマ属の種 (Mycoderma spp.) ；カンジダ属の種 (Candida spp.) ；ロドトルラ属の種 (Rhodotorula spp.) ；トルロプシス属の種 (Torulopsis spp.) ；ゲオトリクム属の種 (Geotrichum spp.) ；クラドスポリウム属の種 (Cladosporium spp.) ；トリコデルマ属の種 (Trichoderma spp.) ；オイディウム属の種 (Oidium spp.) ；アルテルナリア属の種 (Alternaria spp.) ；ヘルミントスポリウム属の種 (Helminthosporium spp.) ；アスペルギリス属の種 (Aspergillus spp.) ；ペニシリウム属の種 (Penicillium spp.) を含む群から選択される。

好ましい実施態様によれば、本発明の麦芽化穀物の製造方法は以下のステップを含んでいる。すなわち、浸漬ステップは一つ以上の湿潤段階を含みまたは浸漬ステップ中に水に浸漬する合計時間は生理学的理由から 30 hr を超えず（好ましくは 10 ~ 25 hr）またはキルニングステップは三つ以上の温度のステップを含み、そして添加される微生物培養物は、好ましくは、リゾプス属の種 (Rhizopus spp.) 好ましくはリゾプス・オリゼ (Rhizopus oryzae) 例えばリゾプス・オリゼ菌株 ATCC 9363 および / またはシュードモナス属の種 (Pseudomonas spp.) 好ましくはシュードモナス・ヘルビコラ (Pseudomonas herbicola) またはアスペルギルス属の種 (Aspergillus spp.) 好ましくはアスペルギルス・オリゼ (Aspergillus oryzae) 例えばアスペルギルス・オリゼ菌株 ATCC 14156 からなる群から選択される。

本発明によれば、麦芽化される穀物は、大麦、小麦、ライ麦、トウモロコシ、エンバク、米、アワ、ライコムギおよびモロコシを含む群から選択される。

本発明の方法では、活性化胞子の存在下、同じかまたは異なる微生物培養物を 1 回以上添加する。使用される微生物培養物は真菌培養物の方が好ましい。活性化胞子を使用すると、一層激しく増殖するためと考えられるが、麦芽の品質の改良に大きく寄与する。この活性化胞子は以下の特性のうち一つを有している。処理された胞子は休眠時の大きさより膨潤し、より詳しく述べると、胞子の大きさは、好ましくはその休眠時の大きさの 1.2 ~ 10 倍になりおよび / または一胞子当たり一つ以上の発芽管が形成されている。活性化胞子は、好ましくは下記処理のうち少なくとも一つまたは組み合わせを実施することによって、環境を変えてやることによって調整される。

(a) 湿潤および / または乾燥のサイクル；

(b) 適当な栄養供給源（例えば、窒素源好ましくはアミノ酸類および / または炭素源好ましくは単糖類もしくは二糖類）または胞子要素 (spore element) の添加；

10

20

30

40

50

(c) 好ましくは 0 ~ 80 の温度範囲内の温度変化に対する暴露；
(d) 好ましくは 2.0 ~ 8.0 の pH 範囲内、より好ましくは 3.0 ~ 6.0 の範囲内の pH の変化に対する暴露。

専門家は、上記のように孢子を膨潤させるかまたは発芽管を得るために、的確な処理ステップを容易に選択することができる。

また、本発明は、得られた麦芽化穀物すなわち欧州醸造家会議が分析した結果、改善されたことを示す麦芽化穀物に関する。前記改良点はモディフィケーションおよび/または高められた加水分解酵素の活性に関連があるはずである。同時に毒素のレベルの低下、例えばフザリウム属の真菌などの望ましくない微生物叢をアウトコンピート (outcompete) することによる微生物の安全性の増大および/または現在の技術水準の麦芽化穀物に比較して増大した受容性が見られる。

例えば、本発明の麦芽化穀物は、現在の技術水準による麦芽化穀物より (以下の実施例および図に示すように) - グルカンの含量が低いかまたは - グルカナーゼもしくはキシラナーゼの活性が高い。その結果、濾過速度が高くなることによって代表されるように、麦汁やビールの製造時の麦芽の加工性が向上する。

本発明の他の目的は、嗜好飲料を製造するのに本発明の麦芽化穀物を使用することである。

また本発明は、これらの改良された嗜好飲料類に関する。また、本発明の改良麦芽化穀物は、高い酵素活性によってビールからのアルコールの除去を促進するので、アルコールなしもしくは低アルコールのビールまたはライトビールを醸造するのに有利に使用できる。また、本発明の改良麦芽化穀物は、当業技術者にとって周知の他の生物工学的方法に使用することができ、これらの方法は、ほとんどが、本発明の改良麦芽化穀物の改良された品質を利用できる。

本発明の他の目的は、ベーカリー産業のような食品技術分野でパン添加物として、変換特性が高い動物飼料を製造する飼料技術分野、紙やパルプの技術分野で漂白剤として、または洗剤組成物に使用することである。

本発明を、以下の図面を参照して種々の実施例でさらに説明する。

【図面の簡単な説明】

図 1 は実施例 1 の製造方法によって得られた麦芽化大麦の - グルカナーゼの活性を示す (注: 実施例 1 参照)。

図 2 は実施例 1 の製造方法によって得られた麦芽化大麦のキシラナーゼの活性を示す (注: 実施例 1 参照)。

図 3 は実施例 3 の製造方法によって得られた麦芽化大麦の - グルカナーゼの活性を示す (注: 実施例 3 参照)。

図 4 は実施例 3 の製造方法によって得られた麦芽化大麦のキシラナーゼの活性を示す (注: 実施例 3 参照)。

図 5 は細菌集団の相対増加率 (relative increase factor) (R . I . F .) を示す (本文の麦芽評価、実施例 2 参照) (注: 実施例 2 参照)。

実施例 1 .

1 . 微生物培養物の調整

菌株

S 4 6 : リゾプス・オリゼ A T C C 9 3 6 3

孢子懸濁液の調整

上記菌株を、P D A (Potato Dextrose Agar, Oxoid) 上で、28 にて約 10 日間増殖させた；

その孢子を、滅菌生理食塩水 (0.9% NaCl) で培養物を流し出し次に孢子を形成した菌糸体を滅菌スパチュラでゆるやかにこすり落とすことによって収穫した；

上記孢子懸濁液を、遠心分離 (5500 rpm, Sorvall Type SS - 34 (登録商標)、15 分間) によって滅菌生理食塩水 (0.9% NaCl) で 2 回洗浄し、次いで滅菌生理食塩水 (0.9% NaCl) に再度懸濁させた。

10

20

30

40

50

孢子密度を、Thoma counting chamberを用い、顕微鏡で測定した。

孢子懸濁液の活性化

10⁷個の孢子を、滅菌酸性化TSB (Tryptic Soy Broth, Oxoid) pH = 4.0の20 ml 中に移し、攪拌水浴中、±42℃で5～6時間インキュベートした；

生成した活性化孢子を、遠心分離 (3500 rpm、Sorvall Type SS-34、15分間) によって収穫し、遠心分離 (3500 rpm、Sorvall Type SS-34、15分間) によって滅菌生理食塩水 (0.9% NaCl) で1回洗浄し、次いで滅菌生理食塩水 (0.9% NaCl) 中に再び懸濁させた。

2. 大麦

Plaisant - 1994年フランスでの収穫品

10

3. 工程

手順

麦芽を4種の麦芽化法で製造した：

A1. 伝統的な麦芽化

(孢子懸濁液の接種なし)

B1. 非活性化孢子を接種して行う麦芽化

(浸漬済大麦に、リゾプス・オリゼATCC9363の非活性化孢子の懸濁液を接種)

C1. 本発明の麦芽化法

(浸漬済大麦に、リゾプス・オリゼATCC9363の活性化孢子の懸濁液を接種)

D1. 本発明の麦芽化法

(第一湿潤段階で浸漬されている大麦に、リゾプス・オリゼATCC9363の活性化孢子の懸濁液を接種)

20

浸漬

浸漬は、水 (水道水) 合計量：風乾大麦量の比を1.5：1として2kgベースで実施した。

穴あきプレートを設置された2台の醗酵槽 (Bioflo III, New Brunswick Scientific) を使用した；

温度は湿潤段階中のみ制御した；エアレスト (air rest) 段階中、システムは室温 (±20℃) に到達した；

全浸漬期間中、大麦に通気した (4L滅菌空気/min)；

30

浸漬は以下の方式を用いて浸漬することによって実施した：

	温 度 (°C)	期 間 (h)
第一湿潤段階	13	6 : 00
第一エアレスト段階	20	17 : 00
第二湿潤段階	14	5 : 00
第二エアレスト段階	20	15 : 30
第三湿潤段階	16	2 : 30

40

微生物培養物の添加

±460gの浸漬済大麦を、孢子を含有しない水道水 (A1)、リゾプス・オリゼATCC9363の非活性化孢子を含有する水道水 (B1)、またはリゾプス・オリゼATCC9363の活性化孢子を含有する水道水 (C1、本発明) の0.5L中に浸した。なおB1とC1の場合、浸漬済大麦が、風乾大麦1g当たり10⁴個の孢子を接種された；

浸漬中、風乾大麦1g当たり10⁴個の活性化孢子を第一湿潤段階の水に接種した (D1)；

流体はドレーニングで除去した。

発芽

50

穴あき蓋付きの円筒形容器中、16～18 の温度で4日間、発芽を行った；

空気は自然拡散によって供給した；

上記容器は、電子制御式ローラーシステム [Cellroll (登録商標)、Tecnorama] でゆっくり回転させた；すなわち2時間毎に、上記容器を1rpmで15分間転動させた。

キルニング

キルニングはJoe White麦芽化装置 (オーストラリア) で実施した。

	空気流 (%)	再循環空気 (%)	温 度 (℃)	期 間 (h)
第一キルニング段階	25	0	62	3:00
第二キルニング段階	25	0	65	2:00
第三キルニング段階	25	0	68	2:00
第四キルニング段階	25	25	73	2:00
第五キルニング段階	25	50	78	1:00
第六キルニング段階	25	75	80	2:00
第七キルニング段階	25	100	83	6:00
停止通気中止				停 止

4. 分析方法と分析結果

Analytica-European Brewery Convention

(第4版、1987年、Brauerei und Getränke-Rundschau)

による水分、エキストラクト、エキストラクト・ディフェレンス (extract difference)、色、全タンパク質含量、可溶性タンパク質含量、コルパツハ指数 (Kolbach index)、pH、糖化力 (diastatic power) の測定方法と測定装置。

Analytica-European Brewery Convention

(第4版、1987年、Brauerei und Getränke-Rundschau、1989年に増補)

による濁度、破碎性、均質性、全粒子、 α -グルカン含量の測定方法と測定装置。

麦汁の後着色 (postcoloration) を、コングレス麦汁 (congress wort) を108 で還流しながら2hr沸騰させた後に測定した。

コングレス麦汁の粘度をDelta-viscosimeterで測定した。

濾過容積を測定する場合、コングレス麦汁を、Schleicher and Schuell 5971/2の折畳みフィルターで濾過した。1時間濾過した後に得られる容積 (ml) が麦汁の濾過容積である。

モディフィケーション (modification) はCarlsberg法によりCalcofluor装置 (Haffmans) を用いて測定する

(Analytica-European Brewery Convention, 第 40

4版、1987年、Brauerei und Getränke-Rundschau)。

α -グルカナーゼとキシラナーゼの活性はそれぞれ、 α -グルカザイム法 (α -glucosidase method) [(Megazyme (Austr.) Pty Ltd (1993年4月)] およびキシラザイム法 (xylanase method) [(Megazyme (Austr.) Pty Ltd (1995年9月)] で測定する。

	伝統的な 麦芽化法 (A 1)	非活性化胞子 を接種する 麦芽化法 (B 1)	本発明の 麦芽化法 (C 1)	本発明の 麦芽化法 (D 1)
水分	3.9	4.1	3.8	4.3
エキストラクト	80.3	80.4	80.3	79.8
エキストラクト・デフィエンス	0.8	0.8	0.4	1.1
色	3.3	3.3	4.1	4.1
麦汁の濁度	1.3	1.2	0.7	0.8
後着色	6.0	6.0	7.3	7.5
全タンパク質含量	10.1	10.3	10.0	10.1
可溶性タンパク質含量	4.1	4.4	4.8	5.2
コルバッハ指数	40.6	42.7	48.0	51.0
粘度	1.57	1.52	1.52	1.54
pH	6.05	6.3	5.87	5.79
糖化力	345	349	352	419
全粒子	0.3	0.3	0.1	ND
破碎性	83	82	83.9	ND
均質性	98.5	97.9	98.6	ND
β -グルカン含量	122	108	46	<40
濾過容積	210	265	290	275
モディフィケーション	88.2	90.5	93.4	ND
β -グルカナーゼの活性	214	371	683	3856
キシラナーゼの活性	28	34	56	984

ND : 測定せず

図 1 と 2 はそれぞれ、得られた麦芽化大麦 (A 1、B 1、C 1、D 1) の β -グルカナーゼの活性とキシラナーゼの活性を示す。 β -グルカナーゼの活性は β -グルカザイム法 [Megazyme (Austr.) Pty Ltd. (1993 年 4 月)] で測定した。したがって、麦芽の β -グルカナーゼの活性 (U/kg) は、 $380 \times E(590 \text{ nm}) + 20$ として算出した。

10

20

30

40

50

キシラナーゼの活性は、エンド１－４－キシラザイム法 [Megazyme (Austr.) Pty Ltd. (１９９５年９月)] で測定した。したがって、麦芽のキシラナーゼの活性 (U / k g) は、 $(46.8 \times E (590nm) + 0.9) \times 5$ として算出した。

実施例 ２．

１．微生物培養物の調整

菌株

S 4 6 : リゾプス・オリゼ A T C C 9 3 6 3

孢子懸濁液の調整

実施例 １ に記載したのと同じ

孢子懸濁液の活性化

実施例 １ に記載したのと同じ

２．大麦

Stander - １９９５年北米での収穫品

３．工程

手順

麦芽は ６ 種の麦芽化法で製造した：

A ２．伝統的な麦芽化法

(孢子懸濁液の接種なし)

B ２．非活性化孢子を接種して行う麦芽化法

(浸漬済大麦に、リゾプス・オリゼ A T C C 9 3 6 3 の非活性化孢子の懸濁液を接種)

C ２．本発明の麦芽化法

(第一湿潤段階で浸漬されている大麦に、リゾプス・オリゼ A T C C 9 3 6 3 の活性化孢子の懸濁液を接種)

D ２．本発明の麦芽化法

(第二湿潤段階で浸漬されている大麦に、リゾプス・オリゼ A T C C 9 3 6 3 の活性化孢子の懸濁液を接種)

E ２．本発明の麦芽化法

(第三湿潤段階で浸漬されている大麦に、リゾプス・オリゼ A T C C 9 3 6 3 の活性化孢子の懸濁液を接種)

F ２．本発明の麦芽化法

(浸漬済の大麦に、リゾプス・オリゼ A T C C 9 3 6 3 の活性化孢子の懸濁液を接種)

浸漬および微生物培養物の添加

浸漬は、水 (水道水) 合計量：風乾大麦量の比を ５：３として ３００ g ベースで実施した；

２０００ m l のフラスコを使用した；

湿潤段階中およびエアレスト段階中、１８℃の温度を維持した；

全浸漬期間中、大麦に圧縮空気で通気した；

浸漬は下記の方式で実施した；

	期 間 (h)
第一湿潤段階	6 : 0 0
第一エアレスト段階	1 8 : 0 0
第二湿潤段階	5 : 0 0
第二エアレスト段階	1 9 : 0 0
第三湿潤段階	2 : 0 0

浸漬工程中、大麦を浸漬する前に、１ g の風乾大麦当たり 10^4 個の活性化孢子を、第一湿潤段階の水 (C ２) 、第二湿潤段階の水 (D ２) 、または第三湿潤段階の水 (E ２) に

10

20

30

40

50

接種した；

浸漬済大麦は、胞子を含有しない水道水 0.5 L (A2、C2、D2、E2)、非活性化胞子を含有する水道水 0.5 L (B2)、または活性化胞子を含有する水道水 0.5 L (F2) に浸漬し、B2 と F2 の場合、浸漬済大麦に、風乾大麦 1 g 当たり 10^4 個の胞子が接種された；

流体はドレインングで除去した。

発芽

実施例 1 に記載したのと同じ

キルニング

実施例 1 に記載したのと同じ

10

麦芽の評価

細菌集団増加の測定

麦芽化工程中の細菌集団の進化を判定するため、未乾燥麦芽 (green malt) に生じる全細菌数を、大麦に生成する全細菌数で割り算することによって相対増加率 (R.I.F.) を求めた。上記全細菌数は、100 ppm のピマリシンを補充した Tryptic Soy Agar (Oxoid) 上に、穀粒の抽出物を適当に希釈したものをプレートし、次いで 28℃ で 3 日間インキュベートした後に測定した。

図 5 は、実施例 2 の調整法による麦芽化中の細菌集団の増大を示す。

実施例 3

1. 微生物培養物の調整

20

菌株

S46：リゾプス・オリゼ ATCC 9363

胞子懸濁液の調整

実施例 1 に記載したのと同じ

2. 大麦

Plaisant - 1994 年フランスでの収穫品

3. 工程

手順

麦芽は 3 種の麦芽化法で調整した。

A3. 伝統的な麦芽化

30

(胞子懸濁液の接種なし)

B3. 非活性化胞子を接種して行う麦芽化法

(浸漬済の大麦に、リゾプス・オリゼ ATCC 9363 の非活性化胞子の懸濁液を接種)

C3. 本発明の麦芽化法

(浸漬済の大麦に、リゾプス・オリゼ ATCC 9363 の活性化胞子を接種)

浸漬

浸漬は、水 (水道水) 合計量：風乾大麦の比を 1.5 : 1 として、2 kg ベースの風乾大麦で実施した；

浸漬水の pH は、乳酸および NaOH を添加することによって pH = 5.5 に制御した；

穴あきプレートを配置された醗酵槽 (Bioflo III, New Brunswick Scientific) を用いて浸漬を行った；

40

温度は湿潤段階中のみ制御した。エアレスト段階中、システムは室温 (約 20℃) まで到達した；

全浸漬期間中、大麦に通気した (4 L 滅菌空気 / min)；

浸漬は以下の方式で浸漬することによって実施した。

	温 度 (°C)	期 間 (h)
第一湿潤段階	13	6 : 00
第一エアレスト段階	20	17 : 00
第二湿潤段階	14	5 : 00
第二エアレスト段階	20	15 : 30
第三湿潤段階	16	2 : 30

10

微生物培養物の添加

460 g の浸漬済大麦を、胞子を含有しない水道水 0.5 L (A3)、リゾプス・オリゼ ATCC 9363 の非活性化胞子を含有する水道水 0.5 L (B3)、またはリゾプス・オリゼ ATCC 9363 の活性化胞子を含有する水道水 0.5 L (C3、本発明による) に浸した；B3 と C3 の場合、浸漬済大麦に風乾大麦 1 g 当たり 1×10^4 個の胞子が接種された。

流体はドレーニングで除去した。

発芽

実施例 1 に記載したのと同じ

キルニング

実施例 1 に記載したのと同じ

4. 分析方法と分析結果

これらのことは、実施例 1 に記載した (4. 分析方法と分析結果) と同じであった。

次頁の表参照。この表中、下記の記号の意味は以下のとおりである。

* A1 / 3 : 伝統的麦芽化法

B1 / 3 : 非活性化胞子を接種する麦芽化法

C1 / 3 : 本発明の麦芽化法

20

	実施例 3 浸漬水の pH 制御あり (pH = 5.5)			実施例 1 浸漬水の pH 制御なし		
	A 3	B 3	C 3	A 1	B 1	C 1
水分	3.8	3.6	3.7	3.9	4.1	3.8
エクストラクト	78.9	80.2	80.7	80.3	80.4	80.3
エクストラクト デイワレンス	0.6	0.7	0.4	0.8	0.8	0.4
色	3.2	4.2	4.4	3.3	3.3	4.1
麦汁の濁度	1	1	0.8	1.3	1.2	0.7
後着色	5.1	7	7.2	6	6	7.3
全タンパク質含量	10.2	10.1	10	10.1	10.3	10
可溶性タンパク質含量	4	4.4	4.8	4.1	4.4	4.8
コルバツハ指数	39.2	43.6	48	40.6	42.7	48
粘度	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
糖化力	348	333	355	345	349	352
全粒子	0.2	0.2	0.1	0.3	0.3	0.1
破碎性	81	81	85	83	82	83.9
均質性	97.6	97.8	98.9	98.5	97.9	98.6
β-グルカン含量	190	57	40	122	108	46
濾過容積	210	215	200	210	265	290
モデファイケーション	84.1	85.5	87.4	88.2	90.5	93.4
β-グルカナーゼの活性	202	931	1322	214	371	683
キシラナーゼの活性	43	65	71	28	34	56

図 3 は、麦芽化穀物 A 3、B 3 および C 3 を β-グルカザイム法 [Megazyme (AUSTR) Pty Ltd.] で測定した β-グルカナーゼの活性を示す。麦芽のグルカナーゼ活性 (U / k g) は、実施例 1 に記載したのと同様にして算出した。A 3 は、浸漬水の pH を制御する (pH = 5.5) 伝統的な麦芽化法によって得た。B 3 は、浸漬済の大麦に、リゾプス・オリゼ ATCC 9363 の非活性化胞子の懸濁液を接種し、かつ浸漬水の pH を制御する (pH = 5.5) 本発明の麦芽化法で得た。C 3 は、浸漬済の大麦にリゾプス・オリゼ AT

10

20

30

40

50

CC9363の活性化胞子の懸濁液を接種し、かつ浸漬水のpHを制御する(pH = 5.5)本発明の麦芽化法で得た。

これらの試験結果は、浸漬水のpHを約5.5に維持するとβ-グルカナーゼの活性が増大することを示している。

図4は、キシラナーゼの活性に関する対応する試験結果を示す。これらの活性はキシラザイム法[Megazyme (AUSTR), Pty. Ltd. (1995年9月)]によって測定した。麦芽のキシラナーゼの活性は、実施例1によって測定したのと同様に算出した。

実施例1と3によって得られたβ-グルカナーゼの活性と、国際特許願公開第WO94/29430号に記載されているような現在の技術水準によるβ-グルカナーゼの活性との比較

10

本発明によってβ-グルカナーゼの活性が改善された結果を比較するため、我々は、係数μを下記のように定義した。

処理された麦芽のβ-グルカナーゼの活性

μ =

対照の麦芽のβ-グルカナーゼの活性

対照の麦芽、および本発明の実施例1と3に記載したようなリゾプス・オリゼATCC9363で処理した麦芽とについて上記係数を算出した。

また、ゲオトリクム・カンジダムを使用した国際特許願公開第WO94/29430号(実施例1)に記載したデータについても計算した。

国際特許願公開第WO94/29430号および本願に記載されているβ-グルカナーゼの活性はともに、β-グルカザイム法[Megazyme (Austri) Pty. Ltd. (1993年4月)]で測定した。したがって、麦芽のβ-グルカナーゼ活性(U/kg)は380 × E(590nm) + 20として算出し、活性の1単位は、定義された上記条件下、1分間に還元糖を1マイクロモル当量放出するのに必要な酵素の量と定義した。

20

試験結果の比較

現在の技術水準				本 発 明			
	μ	μ	μ	実施例1	μ	実施例3	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		

30

* Gc : ゲオトリクム・カンジダム

試験結果は、本発明によれば、麦芽のβ-グルカナーゼの活性が、すでに報告されている(国際特許願公開第WO94/29430号)より、一層劇的に増大することを明瞭に示している。

40

したがって、微生物培養物を添加しない従来の麦芽化法に比べて、少なくとも4倍のβ-グルカナーゼの活性を有する麦芽化穀物を得ることができることは明らかである。

また、図2と4から、微生物培養物を添加しない従来の麦芽化法と比べて、少なくとも4倍のキシラナーゼの活性を有する麦芽化穀物を得ることができることも明らかである。

実施例 4

1. 微生物培養物の調整

菌株

S40 : アスペルギルス・オリゼATCC14156

孢子懸濁液の調整

50

上記菌株を P D A (Potato Dextrose Agar, Oxoid) 上で 2 8 ℃ にて約 7 日間増殖させた ;

その胞子を、滅菌生理食塩水 (0 . 9 % N a C l) で培養物を流し出し、次に胞子を形成した菌糸体を滅菌スパチュラでゆるやかにこすり落とすことによって収穫した ;

上記胞子懸濁液を、遠心分離 (5 5 0 0 r p m、Sorvall type SS - 3 4 (登録商標)、1 5 分間) によって滅菌生理食塩水 (0 . 9 % N a C l) で 1 回洗浄し、次いで滅菌生理食塩水 (0 . 9 % N a C l) 中に再度懸濁させた。

胞子密度を、Thoma counting chamberを用い、顕微鏡で測定した。

胞子懸濁液の活性化

5 × 1 0 ⁷ 個の胞子を、滅菌酸性化 T S B (Tryptic Soy Broth, Oxoid) p H = 5 . 0 の 2 0 m l 中に移し、攪拌水浴中、3 5 ℃ にて 3 h r (1) または 1 h r (2) インキュベートした。

10

2 . 穀物

Clarine大麦 - 1 9 9 5 年フランスでの収穫品

3 . 工程

手順

麦芽を 2 種の麦芽法で製造した。

A 4 . 伝統的な麦芽化

(胞子懸濁液の接種なし)

E 4 . 本発明の麦芽化法

20

(第一湿潤段階および第三湿潤段階で浸漬されている大麦に、アスペルギルス・オリゼ A T C C 1 4 1 5 6 の活性化胞子の懸濁液を接種)

浸漬

実施例 1 に記載したのと同じ

微生物培養物の添加

浸漬中、1 g の風乾大麦当たり 5 × 1 0 ³ 個の活性化胞子 (1) を第一湿潤段階の水に接種し、かつ 1 g の風乾大麦当たり 1 × 1 0 ⁴ 個の活性化胞子 (2) を第三湿潤段階の水に接種した (E 4) ;

発芽

± 4 6 0 g の浸漬済大麦の発芽を、穴あき蓋を有する円筒形容器内で、1 6 ~ 1 8 ℃ の温度で 4 日間実施した ;

30

空気は自然拡散で供給した ;

上記容器は、電子制御式ローラーシステム [Cellroll (登録商標)、Tecnorama] でゆっくり回転させた ; すなわち上記容器を、2 時間毎に、1 r p m で 1 5 分間転動させた。

キルニング

実施例 1 に記載したのと同じ

4 . 分析方法と分析結果

これらのことは、実施例 1 に記載した (4 . 分析方法と分析結果) と同じであった。

穀粒を以下の六つの範疇に分類することによって、幼芽鞘長を測定した。すなわち、幼芽鞘なしの穀粒 (0)、穀粒長の 0 ~ 2 5 % (0 ~ 1 / 4) の長さの幼芽鞘を有する穀粒、穀粒長の 2 5 ~ 5 0 % (1 / 4 ~ 1 / 2) の長さの幼芽鞘を有する穀粒、穀粒長の 5 0 ~ 7 5 % (1 / 2 ~ 3 / 4) の長さの幼芽鞘を有する穀粒、穀粒長の 7 5 % ~ 1 0 0 % (3 / 4 ~ 1) の長さの幼芽鞘を有する穀粒、および穀粒長の 1 0 0 % を超える (> 1) 長さの幼芽鞘を有する穀粒である。

40

		0	0— 1/4	1/4— 1/2	1/2— 3/4	3/4— 1	> 1
1日間発芽	A 4	0	1	60	39	0	0
1日間発芽	E 4	0	0	11	77	12	0
4日間発芽	A 4	1	1	31	64	3	0
4日間発芽	E 4	1	0	1	42	49	7

10

アスペルギルス・オリゼ A T C C 1 4 1 5 6 の活性化胞子を用いると、麦芽の分析事項が改善されることが分かった（以下参照）。さらに、予想外のことであったが、伝統的な方法ではなく本発明の方法を用いた場合、麦芽化工程中、大麦幼芽鞘の長さが有意に長くなることが発見されたのである。

	伝統的な麦芽化法 (A 4)	本発明の麦芽化法 (E 4)
水分	4.3	4.0
エクストラクト	80.9	81.1
エクストラクト・デフィエンス	1.0	0.3
色	2.8	3.2
麦汁の濁度	1.6	1.0
後着色	4.8	5.4
全タンパク質含量	10.1	10.0
可溶性タンパク質含量	3.9	4.5
コルバッハ指数	38.6	44.7
粘度	1.57	1.48
pH	5.98	5.89
糖化力	197	201
全粒子	1.3	0.6
破碎性	81	89
均質性	95.0	98.4
β -グルカン含量	378	132
濾過容積	300	310
モディフィケーション	83.9	89.8
β -グルコナーゼの活性	309	392
キシラナーゼの活性	27.82	17.52

実施例 5

1. 微生物培養物の調整

菌株

S 4 0 : アスペルギルス・オリゼ ATCC 14156

S 4 6 : リゾプス・オリゼ ATCC 9363

孢子懸濁液の調整

実施例 4 に記載したのと同じ

孢子懸濁液の活性化

S 4 0 :

5×10^7 個の孢子を、滅菌酸性化 T S B (Tryptic Soy Broth, Oxoid) pH = 5.0 の 20 ml 中に移し、攪拌水浴中、35℃ で 1 時間インキュベートした ;

生成した活性化孢子を、遠心分離 (3500 rpm, Sorvall type SS-34 (登録商標)、15 分間) によって収穫し、次いで滅菌生理食塩水 (0.9% NaCl) 中に再び懸

10

20

30

40

50

濁させた。

S 4 6 :

5 × 10⁷個の胞子を、滅菌酸性化 T S B (Tryptic Soy Broth, Oxoid) p H = 4 . 0 の 20 m l 中に移し、攪拌水浴中、42 で5時間インキュベートした；

生成した活性化胞子を、遠心分離 (3500 r p m、Sorvall type SS - 34 (登録商標)、15分間) によって収穫し、次いで滅菌生理食塩水 (0 . 9 % N a C l) 中に再び懸濁させた。

2 . 穀物

Clarine - 1995年フランスでの収穫品

3 . 工程

手順

麦芽は2種の麦芽化法で製造した：

A 5 . 伝統的な麦芽化

(胞子懸濁液の接種なし)

F 5 . 本発明の麦芽化法

(第一湿潤段で浸漬されている大麦に、アスペルギルス・オリゼ A T C C 1 4 1 5 6 の活性化胞子の懸濁液を接種し、そして浸漬を終わった後、リゾプス・オリゼ A T C C 9 3 6 3 の活性化胞子の懸濁液を接種)

浸漬

実施例 1 に記載したのと同じ

微生物培養物の添加

浸漬中、1 g の風乾大麦当たりアスペルギルス・オリゼ A T C C 1 4 1 5 6 の活性化胞子 1 × 10⁴個を、第一湿潤段階の水に接種した (F 5、本発明) ；

± 460 g の浸漬済大麦を、胞子を含めないか (A 5) またはリゾプス・オリゼ A T C C 9 3 6 3 の活性化胞子を含む (F 5、本発明) 水道水 0 . 5 L 中に浸した；F 5 の場合、浸漬後の大麦が、1 g の風乾大麦当たり 1 × 10⁴個の活性化胞子を接種された；流体はドレーニングで除去した。

発芽

実施例 4 に記載したのと同じ

キルニング

実施例 1 に記載したのと同じ

4 . 分析方法と分析結果

これらのことは実施例 1 に記載した (4 . 分析方法と分析結果) と同じであった。

実施例 4 の場合と同じ幼芽鞘の長さの測定方法

		0	0— 1/4	1/4— 1/2	1/2— 3/4	3/4— 1	> 1
1日間発芽	A 5	1	1	53	44	1	0
1日間発芽	F 5	0	1	21	73	5	0
4日間発芽	A 5	0	0	0	29	63	8
4日間発芽	F 5	0	0	0	13	63	24

10

20

30

40

	伝統的な麦芽化法 (A5)	本発明の麦芽化法 (F5)
水分	3.9	4.2
エクストラクト	81.4	81.8
エクストラクト・デフィエンス	0.9	1.1
色	3.8	3.8
麦汁の濁度	1.4	1.0
後着色	6.9	6.4
全タンパク質含量	10.1	10.2
可溶性タンパク質含量	4.8	5.2
コルバッハ指数	48.0	51.3
粘度	1.51	1.50
pH	5.88	5.82
糖化力	199	214
全粒子	0.8	1.1
破碎性	89	95
均質性	98.3	98.3
β -グルカン含量	120	51
濾過容積	270	220
モディフィケーション	96.8	98.6
β -グルカナーゼの活性	263	907
キシラナーゼの活性	28.86	57.76

実施例 6

1. 微生物培養物の調整

菌株

S46; リゾプス・オリゼ ATCC 9363

胞子懸濁液の調整

実施例 4 に記載したのと同じ

胞子の懸濁液の活性化

10

20

30

40

50

5 × 10⁷個の胞子を、滅菌酸性化TSB (Tryptic Soy Broth, Oxoid) pH = 4.0の20 ml 中に移し、攪拌水浴中、42℃で5時間インキュベートした；生成した活性化胞子を、遠心分離 (3500 rpm, Sorvall type SS-34 (登録商標)、15分間) によって収穫し、次いで滅菌生理食塩水 (0.9% NaCl) 中に再び懸濁させた。

2. 穀物

小麦：Mobil - 1996年ベルギーでの収穫品

3. 工程

手順

麦芽を2種の麦芽化法で製造した：

A6. 伝統的な麦芽化

(胞子懸濁液の接種なし)

D6. 本発明の麦芽化法

(第一湿潤段階で浸漬されている小麦に、リゾプス・オリゼATCC9363の活性化胞子の懸濁液を接種)

浸漬

浸漬は、全水 (水道水) : 空気の比率を1.5 : 1として2 kg ベースで実施した；

穴あきプレートが配置された2台の醗酵槽 (Bioflo III, New Brunswick Scientific) を使用した；

温度は湿潤段階中だけ制御した；エアレスト段階で、システムは室温 (±20℃) に到達した；

全浸漬期間中、小麦に通気した (4 L 滅菌空気 / min) ；

浸漬は下記の下記方式による浸漬で行った。

	温 度 (°C)	期 間 (h)
第一湿潤段階	13	6 : 00
第一エアレスト段階	20	16 : 00
第二湿潤段階	14	4 : 00
第二エアレスト段階	20	16 : 00
第三湿潤段階	16	2 : 00

微生物培養物の添加

浸漬中、1 g の風乾小麦当たり1 × 10⁴個の活性化胞子を第一湿潤段階の水に接種した (D6) ；

発芽

実施例4に記載したのと同じ

キルニング

実施例1に記載したのと同じ

4. 分析方法と分析結果

これらのことは実施例1に記載した (4. 分析方法と分析結果) と同じであった。

10

20

30

40

	伝統的な麦芽化法 (A 6)	本発明の麦芽化法 (D 6)
水分	5.5	5.4
エクストラクト	83.6	85.5
エクストラクト・デフィニエンス	1.0	0.6
色	3.9	7.6
麦汁の濁度	1.4	1.4
後着色	5.8	11.5
全タンパク質含量	14.0	14.8
可溶性タンパク質含量	4.9	9.7
コルバッハ指数	35.0	65.5
粘度	1.99	1.79
pH	6.02	5.63
糖化力	183	193
全粒子	19.4	20.2
破碎性	35	42
均質性	79.4	78.7
濾過容積	220	295
β -グルカナーゼの活性	10.9	16640
キシラナーゼの活性	16.85	1620.1

実施例 7

1. 微生物培養物の調整

菌株

S 4 6 : リゾプス・オリゼ A T C C 9 3 6 3

孢子懸濁液の調整

上記菌株を P D A (Potato Dextrose Agar, Oxoid) 上で、28℃にて約7日間増殖させた；

その孢子を、滅菌生理食塩水(0.9% NaCl)で培養物を流し出し次に孢子を形成した菌糸体を滅菌スパチュラでゆるやかにこすり落とすことによって収穫した；

上記孢子懸濁液を、遠心分離(3500 rpm、Jouan C 3 1 2、15分間)によって滅菌生理食塩水(0.9% NaCl)で一回洗浄し、次いで滅菌生理食塩水(0.9% Na

10

20

30

40

50

C 1) に再度懸濁させた ;

孢子密度をThoma counting chamberを用い、顕微鏡で測定した。

孢子懸濁液の活性化

5×10^7 個の孢子を、滅菌酸性化 T S B (Tryptic Soy Broth, Oxoid) p H 4 . 0 の 2 0 m l 中に移し、攪拌水浴中、4 2 °C にて 5 h r (1) インキュベートした。

2 . 穀物

モロコシ (S 1 4)

3 . 工程

手順

麦芽を 2 種の麦芽化法で製造した :

A 7 . 伝統的な麦芽化

(孢子懸濁液の接種なし)

D 7 . 本発明の麦芽化法

(第一湿潤段階中のモロコシに、リゾプス・オリゼ A T C C 9 3 6 3 の活性化孢子の懸濁液を接種)

洗浄

上記モロコシの洗浄を、1 k g のモロコシ当たり 6 L の水道水を使用し、過剰の水を除くことによって実施する。

浸漬

浸漬は、水全体 (水道水) : 空気の比率を 1 . 5 : 1 にして 2 k g ベースで実施した ;

穴あきプレートを設置された 2 台の醗酵槽 (Bioflo III, New Brunswick Scientific) を使用した ;

温度は湿潤段階中だけ制御し ; エアレスト段階中に、システムは室温 (± 20 °C) に到達した ;

全浸漬期間中、モロコシに通気を行った (2 L 滅菌空気 / m i n) ;

浸漬は下記方式を使って浸漬することによって実施した :

	温 度 (°C)	期 間 (h)
第一湿潤段階	28	10 : 00
第一エアレスト段階	20	4 : 00
第二湿潤段階	28	10 : 00
第二エアレスト段階	20	4 : 00
第三湿潤段階	28	10 : 00
第三エアレスト段階	20	4 : 00

微生物培養物の添加

浸漬中、1 g の風乾モロコシ当たり 1×10^4 個の活性化孢子 (1) を第一湿潤段階の水に接種した (D 7) ;

発芽

± 460 g の浸漬済モロコシの発芽を、穴あき蓋付き円筒形容器内で、28 °C の温度で 4 日間行った ;

空気は自然拡散で供給した ;

上記容器は、電子制御式ローラーシステム [Cellroll (登録商標)、Tecnorama] でゆっくり回転させた ; すなわち上記容器を、2 時間毎に、1 r p m で 15 分間回転させた。

キルニング

実施例 1 に記載したのと同じ

4 . 分析方法と分析結果

これらのことは、実施例 1 に記載した (4 . 分析方法と分析結果) と同じであった。

	伝統的な麦芽化法 (A 7)	本発明の麦芽化法 (D 7)
β -グルコナーゼの活性	98	991
キシラナーゼの活性	524.72	413.48

実施例 8：製パン

実施例 6 に記載した小麦の麦芽（A 6：伝統的な麦芽化法；D 6：本発明の麦芽化法）の性能を、Finney, K.F. "An optimised straight-dough breadmaking method after 44 years", Cereal Chemistry, 61 巻, 20 ~ 27 頁, 1984 年に記載されている 100 g 法で比較した。その配合に、我々は、市販の小麦粉、6.0%の糖、3.0%のCrisco (Crisco, Procter and Gamble, 米国オハイオ州シンシナティ所在)、1.5%の食塩および 2.5% 酵母 (Bruggemann, ベルギー) を使用した。麦芽を、0 ~ 0.25% の濃度範囲で等しい重量の小麦粉の代わりに用いて試験した。

分析方法と分析結果

パンの比容積（すなわち、パン 1 g 重量当たりの容積 cc）をナタネ置換法（rapeseed displacement）用いて測定し、かつパンのクラムを評価した。本発明の麦芽は、伝統的麦芽化法によって得られた麦芽より、パンの容積を著しく増大する強力な薬剤であることが明らかに観察された。同時に、我々は、本発明の麦芽および従来の方法による麦芽で製造されたパンのクラムの構造に、有意差がないことを発見した。

	伝統的な麦芽 (A 6)	本発明の麦芽 (D 6)
麦芽添加のレベル (%)	パンの比容積 (cc/g)	パンの比容積 (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

したがって、本発明には、公知の麦芽で製造したパンと比べてパンの容積が 3% 増大する製パン法が含まれる。

引用文献

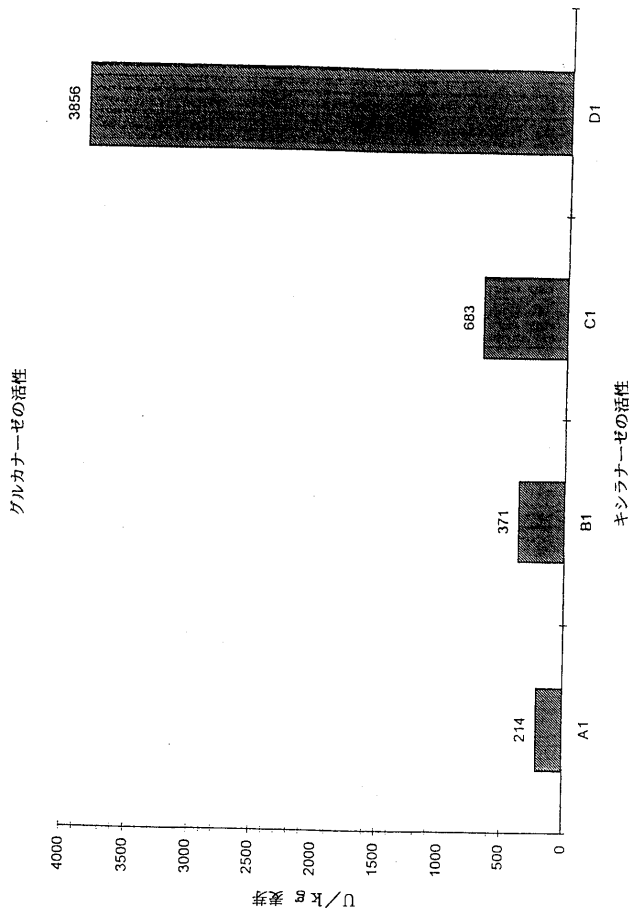
- Thom, C. and Church, M.B., 1926, The Aspergilli, Williams and Wilkins, Baltimore.
- Thom, C. and Raper, K.B., 1945, A Manual of the Aspergilli, Williams and Wilki

ns, Baltimore.

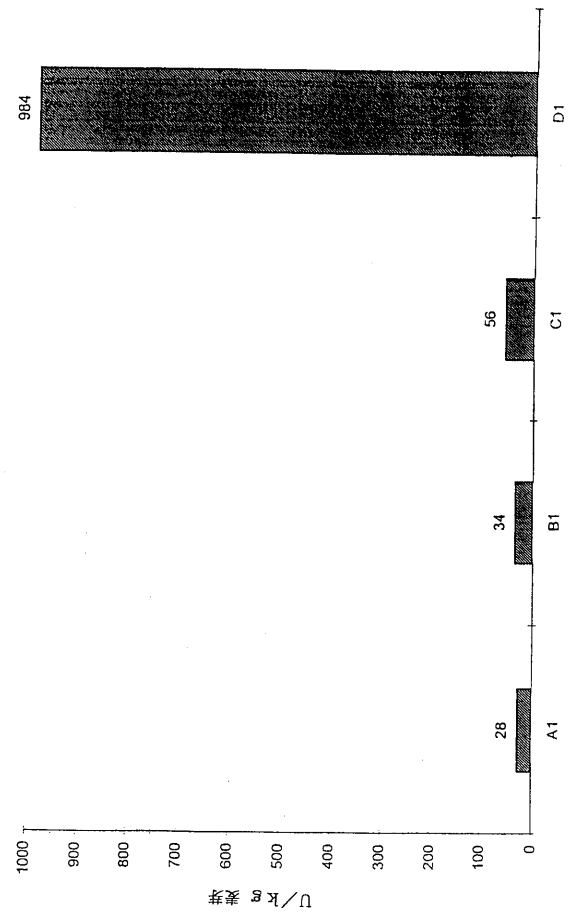
- Raper, K.B. and Fennel, D.I., 1965, The Genus *Aspergillus*, Williams and Wilkins, Baltimore.

- Haffmans B.V., Marinus Damweg 30, Postbus 3150 5902 RD Venlo Holland, The Netherlands.

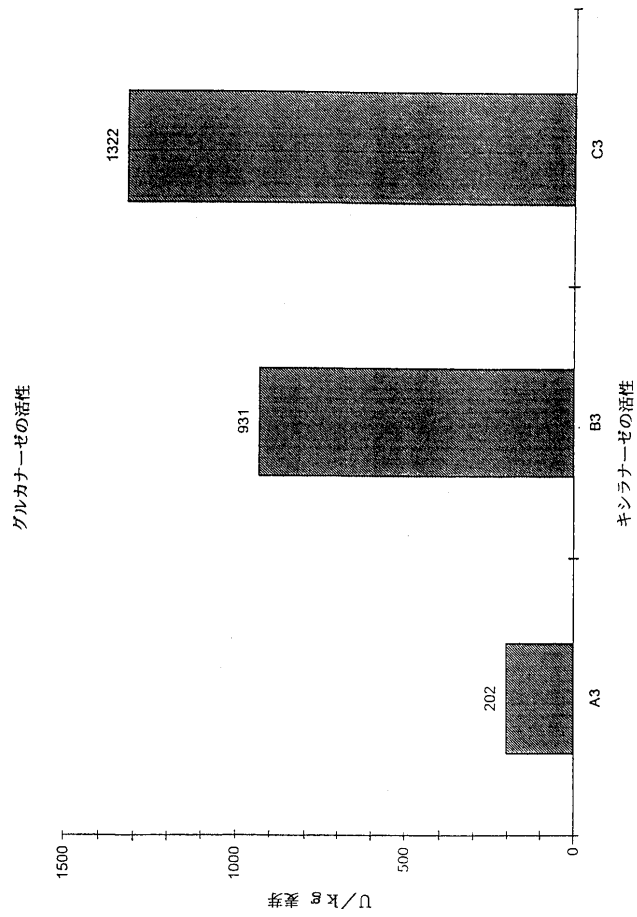
【図 1】



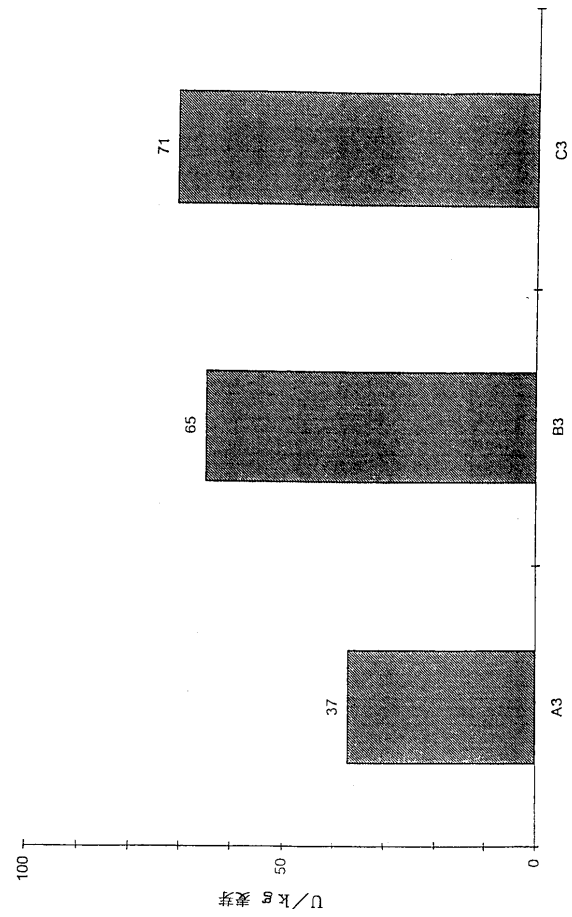
【図 2】



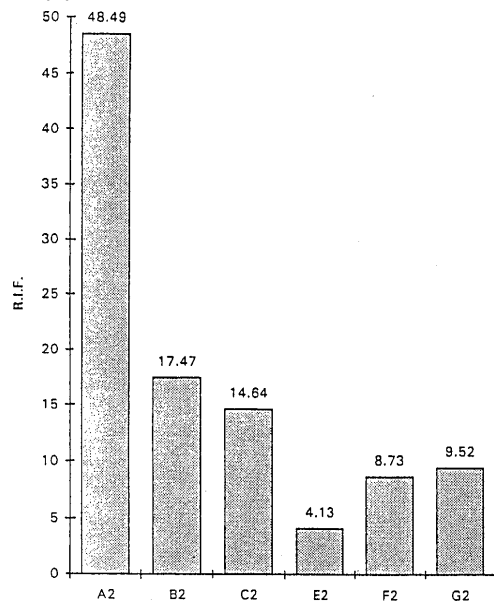
【図 3】



【図 4】



【図 5】



フロントページの続き

(72)発明者 イセランタン, ダーク
ベルギー, ベ 3 0 1 8 ウィグマール, モランストラート 4 0

審査官 田村 明照

(56)参考文献 特表平 0 8 - 5 1 0 9 1 3 (J P , A)
特表平 0 8 - 5 0 5 0 5 6 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C12C 1/00

A21D 2/00

A23K 1/14

C12N 1/14

C12N 1/20