

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 148775 B



DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET

(21) Patentansøgning nr.: 5495/77

(51) Int.Cl.4: C 12 C 9/00

(22) Indleveringsdag: 09 dec 1977

(41) Alm. tilgængelig: 12 jun 1978

(44) Fremlagt: 23 sep 1985

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 11 dec 1976 JP 148981/76 31 aug 1977 JP 104524/77

(71) Ansøger: *KIRIN BEER KABUSHIKI KAISHA; Tokyo-To, JP, *MEIJI SEIKA KABUSHIKI KAISHA; Tokyo-
-To, JP.

(72) Opfinder: Kazuo *Yoshioka; JP, Naoki *Hashimoto; JP, Hidemasa *Hidaka; JP, Toru *Oneda; JP.

(74) Fuldmægtig: Internationalt Patent-Bureau

(54) Fremgangsmåde til fremstilling af ølurt

DK 148775 B

1

Opfindelsen angår en fremgangsmåde til fremstilling af ølurt ved enzymatisk behandling af stivelseholdigt materiale.

Ved brygning underkastes som bekendt humlet
5 urt en alkoholforgæring under anvendelse af bryggerigær, og urten fremstilles ved mæskning af bygmalt, og om nødvendigt af yderligere stivelseholdigt materiale, med en gruppe maltenzymmer, der er produceret under
10 maltningen. Derfor kræver en almindelig fremstilling af ølurt som en væsentlig foranstaltning en såkaldt maltningsproces til fremstilling af malt ved støbningen og spiringen af byggen og dens behandling på maltkølle. Under maltningsprocessen modificeres forskellige komponenter af byggen, som f.eks. stivelse, og der
15 dannes en gruppe enzymer, der er nødvendige for mæskningen.

Under mæskningsprocessen ekstraheres de opløselige materialer, der er til stede i malten, og et yderligere stivelseholdigt materiale, og de uopløselige
20 materialer opløses og nedbrydes af maltenzymmerne.

Hovedformålet med maltningen er at få dannet en gruppe enzymer, der er nødvendige for mæskningen. Denne maltningsproces er imidlertid tidsrøvende, kræver mange faciliteter og medfører en kompliceret proceskontrol.

25 Derfor har undgåelsen af maltningsprocessen, hvor malten er erstattet med umaltet byg og eksterne enzymer, været foreslået tidligt i USA-patent nr. 3.081.172 (1963), og siden da har man gjort mange forsøg i denne retning. For at brygge øl, der har en god
30 smag, er det nødvendigt at fremstille urt, hvis specielle komponenter er inden for et særligt område. Først og fremmest er det ved stivelsenedbrydningen, der er det vigtigste ved brygningen, vigtigt at fremstille for-
gærbare sukkerarter og dextriner på et vist trin i
35 urten under mæskningsprocessen.

De forgærbare sukkerarter er nødvendige som hovednæringsmiddel for bryggerigæren. Dersom disse sukkerarter mangler, sker der dårlig fremadskriden af

forgæringen, hvilket resulterer i en uafbalanceret smag af det endelige øl. Dextrinerne bidrager til kolloidegenskaben og smagsrigdommen ved øl. Det er meget vigtigt at kontrollere dannelsen af forgærbare sukkerarter og dextriner i urten på et ønsket niveau afhængig af den type øl, der skal brygges, for derved at frembringe øl med god smag. Imidlertid er umaltet byg besværligere at nedbryde end malt, fordi enzymdannelsen og modificeringen af stivelsen i bygkornene ikke er tilfredsstillende. Det synes som om den enzymatiske nedbrydning af bygstivelse til fremstilling af ølurt indtil dato ikke har været særlig succesrig. Når malt erstattes fuldstændig af umaltet byg og et externt enzym, har det været umuligt at opnå den tilstrækkelige nedbrydning af bygstivelse under mæskningen således som anført ovenfor, og således at fremstille forgærbare sukkerarter i tilstrækkelig mængde. Den tilsyneladende slutforgæringsgrad af urt, fra byg og enzymer, er lavere, end den der fås fra den konventionelle urt fra malt.

Derfor er det stadigvæk nødvendigt at anvende malt, når det drejer sig om mæskning af byg med eksterne enzymer. I denne forbindelse skal f.eks. henvises til Eur. Brew. Conv., Proc., 149 (1971); J. Inst. Brewing, 80, 206 (1974); MBAA, TECHNICAL QUATERLY, 9, 12 (1972); BREWER' DIGEST, July, 56 (1969) og britisk patentbeskrivelse nr. 1.303.644. Den almindelige fremgangsmåde ved urtfremstilling i byg-externenzymbrygning er som følger: Byg, som hovedråmaterialet, anbringes i et mæskningskar med vand, malt og et externt enzym. Opslæmningen holdes ved en temperatur på 45 til 50°C især af hensyn til proteinnedbrydningen, opvarmes til 60 til 65°C og holdes ved denne temperatur især for dannelsen af forgærbare sukkerarter. Mæskningsdiagrammet er ikke væsentligt forskelligt fra mæskningsdiagrammet ved konventionel mæskning af malt.

På den anden side har man også foreslået og

udført ikke alene undersøgelser for at udvælge eksterne
enzymer, der er velegnet til byg-enzymbrygning, men
også forsøg på at modificere egenskaberne ved byg-
kornene på en sådan måde, at deres komponenter, som
5 f.eks. stivelse, nedbrydes lige så let som i malt.
F.eks. har man foreslået en foropvarmning af byg for
at opløseliggøre den. I dette tilfælde udføres for-
sukringen af den opløseliggjorte byg under tilsætning
af malt som en β -amylasekilde, fordi forbehandlingen
10 af bygkornene ved høje temperaturer inaktiverer den
latente β -amylase i kornene. Der henvises til USA-
patentbeskrivelserne nr. 3.712.820, 3.713.840 og
3.719.500.

Et forsøg på at fremstille ølurt uden an-
15 vendelse af malt i det hele taget ved at koge byg og
en yderligere mængde stivelseholdigt materiale efter-
fulgt af enzymatisk behandling er velkendt. I dette
tilfælde, da sukkersirup tilsættes i en mængde på 3
gange byggets mængde (således som beskrevet i
20 japansk offentliggjort patentansøgning nr. 4428/65),
beskrives denne proces ikke helt som en fuldstændig
erstatning af malt med byg og enzymer.

Skønt det som beskrevet ovenfor ved produktionen
af ølurt ved enzymatisk behandling af byg først og
25 fremmst er et meget vigtigt krav, at den tilsyneladende
slutforgæringsgrad af urten ud fra byg og enzymer kan
sammenlignes med den almindelige urts ud fra malt, er
det også vigtigt, at sammensætningen af de nitrogen-
holdige forbindelser i urt fra byg og enzymer kan
30 sammenlignes med sammensætningen i urten fra malt.
Med hensyn til nitrogenholdige forbindelser, som er
vigtige komponenter sammen med kulhydraterne, er det
nødvendigt, at tilstrækkelige mængder aminosyrer
fremstilles, og at peptider også forefindes i passende
35 omfang.

Lavmolekylære nitrogenholdige forbindelser
herunder aminosyrer er nødvendige som hovednærings-
middel for bryggerigær. Dersom der mangler disse

nitrogenholdige forbindelse,
foregår forgæringen af urten ikke på normal måde, og
smagsegenskaberne afbalancering i det derved frem-
komne øl er ikke normalt. På den anden side bidrager
5 højmolekylære nitrogenholdige forbindelser til de
kolloidale egenskaber og smagsfylden ved øl. Følgelig
er det ved fremstilling af ølurt også et vigtigt krav
ved fremstillingen af øl, der har en god smag, at
indholdet af lavmolekylære nitrogenholdige forbindelser
10 og højmolekylære nitrogenholdige forbindelser indstilles
på et niveau inden for det ønskede område.

Ved den hidtil kendte teknik i forbindelse med
enzymatisk behandling af byg, har fuldstændig erstat-
ning af malt med byg og eksterne enzymer resulteret i
15 en sammensætning af nitrogenholdige forbindelser i
den fremkomne urt, der er forskellig fra den, der fås i
konventionel urt fra malt. I konventionel urt frem-
stillet ud fra malt er forholdet mellem formol-
nitrogen, der angiver mængden af lavmolekylære nitrogen-
20 holdige forbindelser, og det totale nitrogenindhold
ca. 1:3, medens forholdet i urt, fremstillet når man
fuldstændig erstatter malt med byg og et eksternt enzym,
er ca. 1:4. Der henvises til Inst. Brew. Australia og
New Zealand Sec. 111 (1966).

25 Ved den enzymatiske behandling af byg har
lavmolekylære nitrogenholdige forbindelser i urten en
almindelig tendens til at være i underskud, når man
sammenligner med konventionel urt, således som vist
i Eur. Brew. Conv. Proc. Congr. 283 (1967), og selv
30 om den enzymatiske behandling udføres sammen med ca.
20% malt, forbliver denne tendens uforandret. Der hen-
vises til USA-patentbeskrivelse nr. 3.713.840,
Brewers' Digest. Juli, 56 (1969) og Process Biochemistry,
August, 46 (1970). Derfor vil, dersom der ved enzymatisk
35 behandling af byg gøres et forsøg på at tilpasse ni-
veauet af total nitrogen i urten med niveauet i
konventionel urt fra malt, lavmolekylære nitrogen-
forbindelser være utilstrækkelig som næringsmiddel for

bryggerigær.

Hvis man derimod på den anden side forsøger at tilpasse niveauet af lavmolekylære nitrogenholdige forbindelser som næringskilde for bryggerigær med
5 niveauet for konventionel urt fra malt, vil mængden af total nitrogen være i overskud. Det er meget vanskeligt at brygge øl, der har en god smag ud fra disse urter, hvis sammensætning af nitrogenholdige forbindelser er forskellig fra sammensætningen af konventionel urt.

10 Det er også kendt, at visse mikroorganismer, der hører til Streptomyces-slægten, danner en amylase, der har en særlig enzymatisk aktivitet således som beskrevet i japansk offentliggjort patentansøgning nr. 1871/74; USA-patentbeskrivelse nr. 3.804.717; engelsk patentbe-
15 skrivelse nr. 1.377.223; canadisk patentbeskrivelse nr. 973.492, dansk fremlæggeskrift nr. 143.906 og fransk offentliggjort patentansøgning nr. 7.138.545 (offentliggørelse nr. 2.110.070). Denne amylase er varmemestabil og har en høj evne til dannelse af maltose såvel som en
20 flydendegørende evne. Hvis denne amylase imidlertid får lov at virke direkte på rå byg, vil den tilsyneladende slutforgæringsgrad og sammensætningen af de nitrogenholdige forbindelser i den herved fremkomne urt ikke være sammenlignelig med, hvad man opnår fra den urt, der kom-
25 mer fra malt.

Dette kan imidlertid opnås ved fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse, som er ejendommelig ved:

1) at man forklitrer et stivelseholdigt
30 materiale, der som hovedbestanddel indeholder byg og yderligere fra 0-80 vægt%, baseret på vægten af byggen, af et stivelseholdigt materiale forskelligt fra byg, og

2) at man lader en amylase indvirke på det forklistrede stivelseholdige materiale for at for-
35 sukre dette, hvilken amylase er frembragt ved aerob dyrkning af Streptomyces hygrosopicus ATCC nr. 21722, Streptomyces viridochromogenes ATCC nr. 21724, Streptomyces albus ATCC nr. 21725, Streptomyces

tosaensis ATCC nr. 21723, Streptomyces aureofaciens ATCC 31379, Streptomyces flavus ATCC 31378 eller Streptomyces hygroscopicus var. angustomyceticus ATCC 31380, og hvilken amylase under anvendelse af
5 stivelse som substrat har optimum-pH i området 4,5-5,0, en minimal stivelsehydrolysegrad på ikke mindre end 75% af den teoretiske maltosemængde, medens forholdet mellem glucose og maltose produceret ud fra stivelsen ved den hydrolytiske virkning af amy-lasen
10 ikke er større end 0,06:1 udtrykt på vægtbasis.

Den anvendte amylase omtales i den følgende beskrivelse med krav som Streptomyces-amylase.

Ved denne fremgangsmåde kan man opnå en ølurt, som har tilstrækkelig mængde forgærbare sukkerarter
15 sammenlignet med mængden i konventionel urt, der stammer fra malt.

Specielt kan man let ved at anvende Streptomyces-amylasen frembringe en urt, der viser en tilsyneladende slutforgæringsgrad så høj som f.eks. 87%, således som
20 beskrevet i det efterfølgende eksempel 7.

Denne egenskab ved Streptomyces-amylasen kan siges at være enestående, fordi forklustringen af byggen som angivet ovenfor forårsager inaktivering af β -amylasen i bygkornene, hvilket, når man anvender
25 andre enzymer end Streptomyces-amylasen, forårsager nedgang i den tilsyneladende slutforgæringsgrad som vist i det efterfølgende eksempel 7. Yderligere resulterer forklustringsbehandlingen i en forbedring af smagen af det fremstillede øl som vist i eksemplerne
30 1-4. Fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse gør det således muligt at fremstille ølurt ved behandling af byg kun med Streptomyces-amylase uden malt.

35 Streptomyces-amylase.

Angående fremstilling og egenskaber af den

ved den foreliggende fremgangsmåde anvendte Streptomyces-amylase henvises til ovennævnte trykskrifter.

Om de ovenfor nævnte amylase-producerende Streptomyces-stammer skal yderligere bemærkes følgende:

- 5
- 1) Streptomyces aureofaciensstammer er også deponeret i FERM* under nr. P606.
 - 2) Streptomyces flavusstammen er også deponeret i FERM under nr. P605.
 - 10 3) Streptomyces hygroscopicus var. angustomyceticusstammen er også deponeret i FERM under nr. P607.
 - 4) Streptomyces hygroscopicusstammen er også deponeret i FERM under nr. P.602.
15 Denne stamme er beskrevet i Waksman:
"The Actinomycetes", Vol. 2(1961) og
"Applied Microbiology", Vol. 10, side 258-
263 (1962). Dette er en af de foretrukne
stammer, der kan anvendes til fremgangsmåden
20 ifølge opfindelsen.
 - 5) Streptomyces viridochromogenesstammen er også deponeret i FERM under nr. P603.
Denne stamme er beskrevet i Waksman:
25 "The Actinomycetes", Vol. 2 (1961) og
"Journal of Bacteriology", Vol. 85,
side 676-690 (1963).
Dette er en af de foretrukne stammer, der
kan anvendes ved den omhandlede fremgangs-
måde.
 - 30 6) Streptomyces albusstammen er også deponeret i FERM under nr. P604.
Denne stamme er beskrevet i Waksman:
"The Actinomycetes", Vol. 2 (1961).
Dette er en af de foretrukne stammer, der
35 kan anvendes ved den omhandlede fremgangs-
måde.

7) *Streptomyces tosaensis* stammen er også deponeret i FERM under nr. P601.

Denne stamme er en af de foretrukne stammer, der er anvendelig ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

5

* FERM nummer er et depotnummer i the Fermentation Research Institute, Agency of Industrial Science and Technology of the Ministry of International Trade and Industry, Japan, Inage, Chiba-Shi, Japan.

10

Dyrkningen af disse stammer under aerobe betingelser og opsamlingen og rensningen af den dannede og ophobede amylase i dyrkningsmediet kan udføres ved en hvilken som helst almindelig kendt fremgangsmåde således som det er almindeligt at anvende for Actinomyceter som vist f.eks. i den ovenfor beskrevne japanske patentpublikation nr. 1871/74 og andre litteraturhenvisninger. F.eks. udsås *Streptomyces hygroscopicus* (ATCC nr. 21722) i et dyrkningsmedium, der består af 2% majsmelet, 1% hvedekim og 0,5% Fermamedium (leveret af Trader's Oil Mill Co., Texas, USA), og som har en pH-værdi på 7,0 ved en temperatur på 28°C i 24 timer for at fremstille en udsåningskultur.

20

25

Herefter overføres udsåningskulturen til et dyrkningsmedium, der indeholder 12% opløselig stivelse, 3% sojabønnekage og 0,2% kaliumdihydrogenphosphat, og som har en pH-værdi på 7,0, og dyrkningen udføres ved en temperatur på 35°C i 90 timer. Den herved fremkomne kulturbouillon filtreres, og filtratet koncentrerer til et væskevolumen på ca. 1/5 af det oprindelige volumen. Herefter tilsættes kold ethanol til den koncentrerede opløsning i en mængde på to gange opløsningens for at udfælde amylasen. Den udfældede amylase tørres, hvorved man opnår et rå enzym.

30

35

Et vigtigt træk ved fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse består i, at den yderligere anvendelse af malt er gjort unødvendig ved at behandle den forklistrede byg med *Streptomyces*-amylase. Hvis
5 det er nødvendigt, kan malt imidlertid også anvendes i kombination med dette materiale. I stedet for den yderligere anvendelse af malt selv, vil anvendelsen af en ringe mængde af diastase ekstraheret fra malt eller anvendelsen af andre amylaser, proteaser, cellulaser,
10 glucanaser og lignende sammen med *Streptomyces*-amylasen også være mulig.

Stivelsesholdige materialer.

Det stivelsesholdige materiale, der behandles
15 med *Streptomyces*-amylase, indeholder som nævnt byg og fra 0 til 80 vægt% baseret på vægten af byggen, af et stivelsesholdigt materiale, der er forskellig fra byg, som f.eks. stivelse, ris, majs, kaoliang, kartoffel, især stivelse af uspirede kornsorter.

20 Det yderligere stivelsesholdige materiale forskellig fra byg kan eventuelt være forklistret forud. Når det yderligere stivelsesholdige materiale er forklistret, kan forklistringsbehandlingen af dette udføres samtidig med eller adskilt fra forklistringen af byggen.

25 Forklistringsbehandlingen i den foreliggende fremgangsmåde kan udføres på en hvilken som helst måde, der er anvendelig til forklistring af stivelsesholdige materialer. Eksempelvis kan man koge byggen i form af korn eller maltskrå. Kogningen omfatter opvarmning af byggen i nærværelse af vand i en mængde på mindst
30 halvdelen af byggens vægt under tryk ved en temperatur på mindst 100°C, fortrinsvis 110-130°C, i mindst 20 minutter, fortrinsvis 30 til 60 minutter. Kogningen kan også udføres ved gennemledning af damp. Et andet
35 eksempel på forklistringsbehandling er en behandling i en ekstruder under forhøjet tryk og temperatur. Ekstruderen omfatter som dens hoveddele en opvarmnings-

indretning til opvarmning og blødgøring af det materiale, der skal behandles, og et snekkeorgan til fremførsel af det blødgjorte materiale under tryk (se Ind. Eng. Chem. 45 970 (1953)). Byggen i form af korn eller malt-
5 skrå forklitres i en ekstruder under forhøjede temperatur- og trykbetingelser. Yderligere stivelsesholdig materiale i en mængde på ikke mere end 80 vægt% af byggen kan også gelatineres med byggen.

Forklistringsbehandlingen kan hensigtsmæssigt
10 udføres ved kogning i nærværelse af et flydendegørende enzym, som f.eks. α -amylase, til dannelse af et forklistet og opløseliggjort stivelsesholdigt materiale.

Efter gelatineringsbehandlingen underkastes byggen i våd tilstand, eller efter at den er tørret (f.eks.
15 til et fugtighedsindhold på ikke mere end 5 vægt%), den omhandlede enzymatiske behandling.

I en hensigtsmæssig udførelsesform for den foreliggende opfindelse fremstilles det forklistrede stivelsesholdige materiale ved at koge byg og fra 0 til
20 mindre end 80 vægt%, baseret på vægten af byggen, af et stivelsesholdigt materiale forskelligt fra byg, og Streptomyces-amylasen bringes til at indvirke på det forklistrede stivelsesholdige materiale, medens et andet yderligere, fra byg forskelligt stivelsesholdigt
25 materiale i en sådan mængde, at summen af det første og det andet, yderligere stivelsesholdige materiale udgør indtil 80 vægt% af byggen, underkastes en opløseliggørende behandling og derefter sættes til det forklistrede stivelsesholdige materiale, på hvilket
30 Streptomyces-amylasen indvirker, hvorpå forsukringsbehandlingen fortsættes. Byggen og det stivelsesholdige materiale kan passende sættes til vand, som udgør 2 - 4 gange mængden af den faste blanding til dannelse af en opslæmning. α -Amylase kan sættes til opslæmningen, el-
35 ler til det nævnte andet, yderligere stivelsesholdige materiale, i en mængde på 0,1 til 0,3% af hele mængden af stivelsesholdigt materiale på tør basis, og den resulterende opslæmning opvarmes ved en temperatur på

70-90° C i 5-30 minutter for at opløseliggøre stivelsen. Opslæmningen koges ved en temperatur på 100-120°C i 5-30 minutter for at fuldende, at stivelsen bliver opløseliggjort.

- 5 Yderligere "stivelsesholdigt materiale" anvendt i den foreliggende beskrivelse med krav kan være sådant, der er blevet underkastet forskellige behandlinger, især enzymatiske behandlinger, udover forklistringsbehandling. F.eks. kan den enzymatiske behandling med α -amylase,
10 cellulase eller protease udføres samtidig med, før eller efter forklistringsbehandlingen.

Mæskningsproces (enzymatisk behandling af stivelseholdigt materiale).

- 15 For at få Streptomyces-amylase til at indvirke på det således fremstillede stivelseholdige materiale, kan der anvendes en hvilken som helst mæskningsproces, der anvendes i konventionel byg-enzym-brygning eller anden passende fremgangsmåde.
- 20 Et eksempel på en sådan fremgangsmåde er infusionsfremgangsmåden, hvor hele opslæmningen underkastes opvarmning i nærværelse af enzym i et enkelt mæskningskar uden opdeling af opslæmningen. I dette tilfælde udføres opvarmningsprocessen på en sådan
25 måde, at den starter ved den laveste temperatur, og at temperaturen efterhånden hæves, eller på en sådan måde, at den starter ved den højeste temperatur, og temperaturen gradvis nedsættes.
- Man kan også anvende dekoktionsmetoden. Denne fremgangsmåde udføres således, at opslæmningen opvarmes
30 i nærværelse af et enzym i et mæskekar, men en del af opslæmningen fjernes og koges i en mæskekedel. Herefter sendes opslæmningen i mæskekedelen tilbage til mæskekarret med det resultat, at temperaturen af
35 hele opslæmningen hæves.

Mere specielt sættes f.eks. Streptomyces-amylasen i en mængde på 1-8 mg pr. g byg til blandingen

af varmt vand og det stivelseholdige materiale, der først er blevet forklisset og flydendeggjort på den ovenfor beskrevne måde. Om nødvendigt sættes 1 til 4 mg pr. g byg af papain som et proteolytisk enzym og 1 til 4 mg pr. g byg af en cellulase til opslæmningen. Den resulterende opslæmning holdes ved 45-55°C i 30 til 90 minutter, og bringes herefter på en temperatur på 60 til 65°C, og holdes ved denne temperatur i 30 til 60 minutter. En del af opslæmningen (ca. 1/3 til 1/2 af hele opslæmningen) fjernes og koges i en mæskekedel i 5 til 10 minutter, hvorefter den sendes tilbage til mæskekarret. Under dette trin holdes den tilbageblevne opslæmning i mæskekarret på en temperatur på 60 til 65°C. På denne måde kan fremstilles ølurt, der er velegnet til brygning af øl med en god smag. Det ovenfor anførte kogetrin kan udføres to gange. F.eks. opvarmes den forenede opslæmning efter den ovenfor anførte operation til en temperatur på 70 til 75°C og herefter fjernes ca. 1/3 til 1/2 af opslæmningen igen for at blive kogt i 5 til 10 minutter. Den tilbageblevne opslæmning holdes på en temperatur på 70 til 75°C i 20 til 40 minutter, hvorefter den forenes med den kogte opslæmning.

Det yderligere stivelseholdige materiale udover byggen behandles fortrinsvis med Streptomyces-amylase sammen med byggen, der er forklisset. Imidlertid behøver det yderligere stivelseholdige materiale i dette tilfælde ikke at være til stede fra begyndelsen af byggens mæskningsproces. Dersom det ønskes, kan det yderligere stivelseholdige materiale først være nedbrudt af α -amylase og/eller cellulase og herefter indføres i byggens mæskningsproces.

Den således producerede mæsk filtreres, og filtratets ekstraktindhold (sød urt) indstilles på det ønskede niveau (f.eks. 10-12° Plato). Herefter tilføjes en passende mængde som f.eks. 2 til 5 g/l humle til sødurten og koges i 1 til 2 timer. Herefter

underkastes den herved fremkomne humlede urt for-
garing med bryggerigær.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen forklares
nærmere i de følgende eksempler.

5

Eksempel 1

Rå byg kogtes under tryk sammen med samme vægt-
mængde vand ved en temperatur på 120°C i 30 minutter.
Herefter tørredes den kogte byg i varm luft ved en
10 temperatur på 85°C i 6 timer. Der opnåedes herved
forklistret byg.

Efter at den fremkomne forklistrede byg var
formalet, anbragtes 9 kg af den formalede byg i et
mækkekar, til hvilket der var sat 30 liter varmt
15 vand med en temperatur på 50°C , 20 g Streptomyces-
amylase, 10 g papain og 10 g cellulase. Opslæmningen
omrørtes ved en temperatur på 50°C i 60 minutter.

3,5 kg majsstivelse, 15 liter varmt vand med
en temperatur på 50°C og 10 g α -amylase anbragtes i
20 en kogebeholder. Indholdet af kogeren opvarmedes til
en temperatur på 70°C i 10 minutter, og denne temperatur
opretholdes i 10 minutter. Derefter hævedes indholdets
temperatur til 100°C i 15 minutter og kogtes i 25 minut-
ter. Under denne proces blev majsstivelsen i stigende
25 grad opløseliggjort.

Efter at disse processer var løbet til ende,
sloges begge opslæmninger sammen, og den herved frem-
komne opslæmning opvarmedes til en temperatur på 65°C
og holdtes ved denne temperatur i 30 minutter. Her-
30 efter overførtes ca. 50% af opslæmningen til en mække-
kedel og kogtes. Den tilbageblevne opslæmning holdtes
ved en temperatur på 65°C i 60 minutter i mække-
karret. Under dette trin foregik størstedelen af dannel-
sen af de forgærbare sukkerarter.

35 Efter at mæskningsprocessen var afsluttet, for-
enedes opslæmningerne fra både mækkekarret og mække-
delen og bragtes til en temperatur på 80°C . Herefter
filtreredes opslæmningen, og den resulterende kage

14

eftergydedes med varmt vand. Efter at ekstraktindholdet af den fremkomne sødurt var indstillet, kogtes urten med humle. Den fremkomne humlede urt afkøledes og underkastedes forgæring med bryggerigær. Forgæring, lagring, filtrering og aftapning på flasker udførtes på sædvanlig 5 bryggerimåde til fremstilling af øl.

Eksempel 2

9 kg formalet byg, 3,5 kg majsstivelse, 10 g α -amylase og 5 g cellulase sættes til 50 liter varmt 10 vand med en temperatur på 50°C , og den herved fremkomne opslæmning holdtes ved en temperatur på 50°C i 30 minutter, opvarmedes til 90°C i 10 minutter, holdtes ved denne temperatur i 10 minutter, og kogtes herefter i 30 minutter. Opslæmningen afkøledes til en temperatur 15 på 50°C , og til denne opslæmning sættes 20 g Streptomyces-amylase, 10 g papain og 10 g cellulase. Herefter holdtes opslæmningen ved en temperatur på 50°C i 30 minutter, og derefter bragtes temperaturen op på 65°C .

20 Herefter gik man frem som beskrevet i eksempel 1.

Eksempel 3

Man gentog eksempel 1, bortset fra at der, når 25 Streptomyces-amylasen og de andre enzymer tilsattes, anvendtes 5 g diastase som et hjælpeenzym for Streptomyces-amylasen.

Eksempel 4

30 Man gentog eksempel 2, bortset fra at der, når Streptomyces-amylasen og de andre enzymer tilsattes, anvendtes 5 g diastase som et hjælpeenzym for Streptomyces-amylasen.

35

Eksempel 5

Rå byg formaledes groft og forklitredes herefter i en ekstruder. Den forklitrede byg behandlede med enzymer som beskrevet for fremgangsmåden i eksempel 1.

5

Eksempel 6

Rå byg og majsgrit forklitredes hver især i en ekstruder. 9 kg forklitret byg og 3,5 kg forklitret majsgrit anbragtes i et mæskekar, og 50 liter varmt vand med en temperatur på 50°C og de i eksempel 1 beskrevne enzymer sættes til mæskekarret. Den herved fremkomne opslæmning holdtes ved en temperatur på 50°C i 60 minutter, hvorefter temperaturen blev bragt til 65°C. Herefter behandlede opslæmningen som beskrevet for fremgangsmåden i eksempel 1. Sammensætningen af den opnåede urt i de ovenfor beskrevne eksempler 1,2,3 og 4 er vist i tabel 1.

I tabel 1 analyseredes sammensætningen af kulhydraterne ved gelfiltreringsmetoden (Am. Soc. Brew. Chem. Proc. 154, 1970), og de andre egenskaber bestemtes ved EBC-metoden (Analytica EBC 3. udgave, 1975).

20

Tabel 1
Sammensætning* af urt

Urt	Eksempel 1	Eksempel 2	Eksempel 3	Eksempel 4	Kontrol**
Tilsyneladende slutforgæ- ringsgrad, %	84,4	83,2	86,5	85,1	83,2 - 86,7
Monosaccharider, %	8,5	8,3	9,3	9,0	8,4 - 10,5
Disaccharider, %	49,2	49,1	50,8	51,0	49,8 - 51,9
Trisaccharider, %	17,3	16,8	16,2	15,9	15,2 - 16,7
Forgærbare sukkerarter, %	75,0	74,2	76,3	75,9	73,4 - 78,5
Oligosaccharider, %	9,3	9,3	9,1	8,7	8,6 - 10,5
Dextrin, %	15,7	16,5	14,6	15,4	12,9 - 16,1
Total nitrogen, mgN/100 ml	80,2	81,0	83,3	84,6	76,2 - 84,7

* Tallene er angivet som tallene i en urt på 11^oP.

** Fem slags malt anvendtes i stedet for byg og enzymer i eksempel 1.

Som det vil fremgå af tabel 1 er sammensætningen af kulhydraterne i den resulterende urt, når forklistet byg behandles med *Streptomyces*-amylasen som beskrevet i eksempel 1 og 2, velegnet til ølbrygning.

5 Smagen af øllet, der er brygget fra den ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen opnåede urt, sammenlignedes med smagen af det kontroløl, der var fremstillet ud fra malt, idet man brugte smagsforsøg (triangelforsøg). Et panel bestående af 20 smagere op-
10 fattede ingen signifikante forskelle mellem det øl, der var brygget ud fra den urt, der var opnået ifølge den foreliggende opfindelse, og kontroløllet. Yderligere havde det øl, der var fremstillet ved fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse, en maltet smag og
15 en ølsmag og var fri for lugten af korn og diacetyl. Øl brygget ud fra urt opnået ved sædvanlig enzymatisk behandling af byg har dårligt nok disse gode smags-egenskaber.

20 Eksempel 7

Byg (kontrol) eller forklistet byg behandlede med et enzym i en mængde, svarende til den sukkerdannende virkning af malt i overensstemmelse med det temperaturskema, der er beskrevet i eksempel 1. Den til-
25 syneladende slutforgæringsgrad af den herved fremkomne urt er angivet i tabel 2.

Tabel 2
Tilsyneladende slutforgæringsgrad af urten (%)

Tabel 2
Tilsyneladende slutforgæringsgrad af urten (%)

Enzym Materiale	Strepto- myces- amylase	Kommercielt produkt A	Kommercielt produkt B	Malt* (kontrol)
Byg + majsstivelse	76	80	72	-
Forklistret byg + majsstivelse	87	73	53	-
Malt + majsstivel- se (kontrol)	-	-	-	82-87

18

* Fem slags malt anvendtes i stedet for byg og forskellige enzymer i eksempel i.

A = "Brew (D) zyme G.P." fra Naarden (Japan) Ltd.

B = bacteriel α -amylase (Novo) fra Novo Industri A/S.

Det vil fremgå af tabel 2, at dersom for-
klistret byg behandles med Streptomyces-materiale som
hovedenzymkilden, er den tilsyneladende slutfor-
gæringsgrad af den herved fremkomne urt sammenlignelig
5 med kontrollens, og denne virkning kan ikke opnås med
andre enzymer.

P A T E N T K R A V

1. Fremgangsmåde til fremstilling af ølurt ved enzymatisk behandling af et stivelseholdigt materiale, k e n d e t e g n e t ved:

- 5 1) at man forklitrer et stivelseholdigt materiale, der som hovedbestanddel indeholder byg og yderligere fra 0-80 vægt%, baseret på vægten af byggen, af et stivelseholdigt materiale forskelligt fra byg, og
- 10 2) at man lader en amylase indvirke på det forklistrede stivelseholdige materiale for at forsukre dette, hvilken amylase er frembragt ved aerob dyrkning af *Streptomyces hygroscopicus* ATCC nr. 21722, *Streptomyces viridochromogenes* ATCC nr. 21724,
- 15 *Streptomyces albus* ATCC nr. 21725, *Streptomyces tosaensis* ATCC nr. 21723, *Streptomyces aureofaciens* ATCC 31379, *Streptomyces flavus* ATCC 31378 eller *Streptomyces hygroscopicus* var. *angustomyceticus* ATCC 31380, og hvilken amylase under anvendelse af
- 20 stivelse som substrat har optimum-pH i området 4,5-5,0, en minimal stivelsehydrolysegrad på ikke mindre end 75% af den teoretiske maltosemængde, medens forholdet mellem glucose og maltose produceret ud fra stivelsen ved den hydrolytiske virkning af amyласen
- 25 ikke er større end 0,06:1 udtrykt på vægtbasis.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at forklistringsbehandlingen udføres ved kogning i nærværelse af et flydendegørende enzym til fremstilling af et forklistret og flydende-

30 gjort stivelseholdigt materiale.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1 eller 2, k e n d e t e g n e t ved, at man koger byg og fra 0 til mindre end 80 vægt%, baseret på vægten af byggen, af et stivelsesholdigt materiale forskelligt fra byg, og at

35 *Streptomyces*-amylasen bringes til at indvirke på det forklistrede stivelsesholdige materiale, medens et andet yderligere, fra byg forskelligt stivelsesholdigt materiale i en sådan mængde, at summen af det første og

det andet, yderligere stivelsesholdige materiale udgør indtil 80 vægt% af byggen, underkastes en opløseliggørende behandling og derefter sættes til det forklistrede stivelsesholdige materiale, på hvilket Streptomyces-
5 amy lasen indvirker, hvorpå forsukringsbehandlingen fortsættes.

Fremdragne publikationer:
