

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

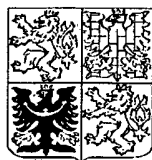
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

3603-97

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **10. 05. 96**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **16.05.95**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **95/9505765**

(33) Země priority: **FR**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12. 08. 98**
(Věstník č. 8/98)

(86) PCT číslo: **PCT/FR96/00713**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 96/36740**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 12 C 1/02

(71) Přihlášovatel:

BRASSERIES KRONENBOURG BK S.A.,
Strasbourg, FR;

(72) Původce:

Zimmermann Didier, Strasbourg, FR;
Gendre Francois, Strasbourg, FR;
Carnielo Michel, Griesheim-sur-Souffel, FR;

(74) Zástupce:

Korejzová Zdeňka JUDr., Břehová 1, Praha
1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Způsob skladování ječmene a slad

(57) Anotace:

Způsob skladování ječmene zahrnuje máčení, klíčení a sušení na hvozdech, v průběhu máčení je zařazen alespon jeden podstupeň máčení v kyselém prostředí při pH po stabilizaci v rozmezí 3,5 až 4,6. S výhodou se máčení v kyselém prostředí uskuteční ve dvou stupních vždy při použití 0,8 až 1,2 litru máčecí vody na kg ječmene. Získaný sklad obsahuje méně než 10⁻⁹ NDMA.

CZ 3603-97 A3

23.01.98

- 1 -

Způsob sladování ječmene a slad

Oblast techniky

Vynález se týká způsobu sladování ječmene, to znamená způsobu, který zahrnuje máčení, klíčení a sušení na hvozdech tak, aby bylo možno dosáhnout nízkého obsahu nitrosodimethylaminu, NDMA.

Dosavadní stav techniky

V průběhu 80. let bylo zjištěno, že pivo obsahuje určité množství NDMA, tato látka je pravděpodobně kancerogenní a mutagenní pro člověka. NDMA, který je přítomen ve sladu pravděpodobně pochází z reakce mezi sekundárními a terciárními aminy, syntetizovanými v ječmenu v průběhu sladování s oxidy dusíku NO_x z okolního vzduchu.

Je pravděpodobné, že hlavními prekursory NDMA mohou být různé typy aminů.

V publikaci T. Wainwright a další, The chemistry of nitrosamine formation : relevance to malting and brewing, Journal Inst. Brew., leden-únor 1986, sv. 92, str. 61 a již v předchozích publikacích uvádějí, že hordenin je pravděpodobně hlavním prekursorem NDMA a ostatní aminy typu dimethylaminu DMA, sarkosinu a graminu hrají pouze druhořadou úlohu při jeho tvorbě.

V publikaci M. M. Mangino a R. S. Scanlan, Nitrosation of the Alkaloids Hordenine and Gramine, Potential precursors of N-Nitrosodimethylamine in Barley Malt, Journal Agric. Food Chem., 1985, sv. 33, str. 705 prokazují důležitou úlohu graminu ze sladu při tvorbě NDMA vzhledem k tomu, že tato látka snadno podléhá nitrosaci působením NO_x ze vzduchu.

Mimoto řada autorů předpokládá, že jedním z hlavních prekursorů NDMA ve sladu je dimethylamin DMA, sekundární amin, k jehož tvorbě dochází v koříncích ječmene v průběhu sladování. Publikace S. Sakuma a další, Formation of N-Nitrosodimethylamine during malt kilning, Reports Res. Lab. Kirin Brewery CO., 1981, sv. 24, str. 20 uvádí, že existuje přímý vztah mezi množstvím NDMA, vzniklým ve sladu a množstvím DMA v zeleném sladu a obsahem NO_x ve vzduchu. Mimoto se také v publikaci L. J. Yoo, Precursors of Nitrosodimethylamine in Malted Barley. Determination of Dimethylamine, Journal Agric. Food Chem., sv. 40, str. 2224 uvádí na bazi množství aminů, stanovených ve sladu a produkci NDMA po nitrosaci, že DMA je hlavním prekursorem DNMA a jeho koncentrace v zeleném sladu umožňuje předpověď potenciálně vznikajícího množství NDMA v průběhu sušení na hvozdech. Současně se v této publikaci a také v publikaci B. Poocharoen a další, Precursors of Nitrosodimethylamine in Malted Barley. Determination of Hordenine and Gramine, Journal Agric. Food Chem., sv. 40, str. 2220 uvádí, že úloha hordeninu a graninu při produkci NDMA ve sladu je pochybná, což současně podporuje názor, že hlavním prekursorem pro tuto látku je skutečně dimethylamin DMA, produkováný v koříncích v průběhu klíčení ječmene.

V současné době již byly uskutečněny pokusy snížit množství NDMA přidáváním síry v průběhu sušení na hvozdech nebo používáním hořáků, vytvářejících malé množství NO_2 nebo se používá nepřímého zahřívání, různé možnosti jsou uvedeny souhrnně v publikaci W. Flad, Minimizing nitrosamine formation during malt kilning, Brauwelt International, listopad 1989.

Uvedené postupy nemají vždy zcela uspokojivé výsledky a mimoto některé šarže sladu, zpracovávané těmito postupy

ještě obsahují nepřijatelná množství NDMA. Mimoto při použití síry může dojít ke tvorbě oxidů síry v průběhu jejího spalování. Použití síry ve sladovnictví je také nevhodné s ohledem na možné znečištění životního prostředí.

Z toho, co již bylo uvedeno vyplývá, že v současné době není k dispozici průmyslově využitelný postup, který by umožnil vyvarovat se použití síry a současně dosáhnout nízkého množství NDMS ze sladu bez nepříznivého ovlivnění kvality sladu a/nebo jeho výtěžku.

Byla již navržena řada postupů, při nichž se přidávají určité látky, obecně kyseliny, a to po vyklíčení, těsně před sušením na hvozdech nebo v průběhu tohoto sušení.

V publikaci William J. Olson, Control of Malt N-Nitrosodimethylamine in Direct Kilning Without Use of Sulfur Oxides, MBAA Technical Quarterly, sv. 19, č. 2, 1982, str. 63 až 67 se navrhuje přidávat před sušením na hvozdech kyselinu fosforečnou a cukr, zvláště dextrosu nebo fruktosu, což dovoluje snížit množství NDMA až na zbytek řádu 2 až 3 mikrogramy/kg, přičemž samotné přidání kyseliny fosforečné sníží množství NDMA na 20 až 30 mikrogramů/kg a přidání samotného cukru až na 5 až 8 mikrogramů/kg. Při provádění tohoto postupu je možno dosáhnout variabilních výsledků, jak je popsáno v publikaci W. J. W. Lloyd a S. J. Huthings, Suppresion of NDMA formation in malt, Compte-rendu de l'EBC Congress 1983, str. 55 až 62. Konečně dochází při přidávání kyseliny fosforečné před sušením na hvozdech ke vzniku nepříjemného pachu, což dále omezuje možnost průmyslového využití postupu.

Další postup, při němž dochází k okyselení materiálu těsně před sušením na hvozdech, byl popsán v publikaci

W. A. Hardwick a další, N-Nitrosodimethylamine in Malt Beverages - Anticipatory Action by the Brewing Industry, Regulatory Toxicology and Pharmacology sv. 2, str. 38 až 66, Academic Press Inc., 1982. Postup spočívá v okyselení povrchu zrn na pH řádu 2,5 (str. 54) tak, aby došlo ke snížení množství NDMA. Předpokládá se "zrosolovatění" hordeninu a dalších potenciálních prekursorů NDMA, které se pak nacházejí v protonované formě, neschopné nebo málo schopné vytvořit NDMA v přítomnosti NO_x . Uvedený postup patrně nebude možno průmyslově využít z důvodů, které jsou uvedeny v publikaci P. A. Brookes, The effects of Nitrosodimethylamine Palliatives on Malt Properties, Journal of Inst. Brew., 1982, sv. 88, str. 256 - 260. Jde zejména o bezpečnostní problémy, které patrně zcela znemožňují využití uvedeného postupu ve větším měřítku.

Dalším známým postupem je snížení množství hordeninu a zpomalení klíčení.

Tohoto zpomalení je možno dosáhnout známými postupy, například přidáním persíranu amonného nebo NO_2 po máčení a před klíčením nebo okyselením máčecí vody, jímž dojde ke zpomalení růstu klíčků nebo také volbou podmínek při klíčení, jako vlhkosti, teploty a doby klíčení tak, aby došlo k omezenému růstu klíčků.

Přidání persíranu amonného nebo bromanu v průběhu sladování se navrhuje v publikaci T. Wainwright a D. D. O'Farrell, Ammonium Persulphate in Malting : Control of NDMA and Increased Yield of Malt Extract, Journal of Inst. Brew., květen-červne 1986, sv. 92, str. 232 - 238. Tento postup, který ještě nebyl využit v průmyslovém měřítku, vyžaduje přidávání kyseliny giberálové.

23.01.98

Použití okyselení máčecí vody pro zpomalení růstu klíčků je známo ze tří publikací T. Wainwrighta:

- Nitrosodimethylamine: formation and palliative measures, Journal Inst. Brew., 1981, sv. 87, str. 264-265,
- N-Nitrosodimethylamine Precursors in Malt, str. 71 až 80 (předběžná citace),
- Nitrosamines in Malt and Beer, Journal Inst. Brew., 1986, sv. 92, str. 73 až 80.

Z uvedených publikací vyplývá, že zejména příslušné okyselení v průběhu máčení, které omezuje růst embrya, snižuje vytvořené množství hordeninu, potenciálního prekursoru NDMA přibližně 10x a v důsledku toho dochází také ke snížení množství NDMA ve výsledném sladu.

Podle poslední z uvedených publikací (str. 76, odst. 3 a 4) mají všechny postupy, jimiž je možno zpomalit růst embrya negativní vliv na kvalitu výsledného sladu a z tohoto důvodu nejsou přímo využitelné v průmyslovém měřítku.

Je nutno z dokumentačních důvodů uvést, že průmyslově prozatím nevyužitě postupy, při nichž dochází k inaktivaci embrya, byly navrženy ještě v dalších dvou publikacích:

- G. H. Palmer a další, Combined acidulation and gibberellic acid treatment in the accelerated malting of abraded barley, J. Ins. Brew., sv. 78, 1972, str. 81 až 83,
- D. Crabb a G. M. Palmer, The Production and Brewing Value of Malt made without Embryo Growth, ASBC Proceedings, 1972, str. 36 až 38.

Uvedené publikace se netýkají problémů, spojených s NDMA a byly také zveřejněny předtím, než se výzkum počal zabývat problémy, spojenými s touto látkou. Cílem uvedených publikací bylo utlumit embryo tak, aby nedocházelo ke tvorbě kořínků, které způsobují ztráty extraktu. Postupy předpokládají přidávání kyseliny giberalové. Je přitom nutno vycházet z obroušeného ječmene tak, aby byl odstraněn perikarp, který je neprostupný pro kyselinu giberelelovou.

Podle první publikace je například možno k obroušeným zrnům ječmene přidat kyselinu sírovou, a to 0,006 N při prvním máčení a 0,01 N do druhé máčecí vody a současně 0,5 až 0,1 ppm kyseliny giberelelové do každé máčecí vody. Tímto způsobem dochází k inaktivaci embrya a v důsledku toho také ke snížení množství kořínků až o více než 70 %, čímž současně dochází ke zvýšení množství rozpustných bílkovin, stimulaci aleuronové vrstvy, zvýšení množství extraktu v důsledku snížení růstu embrya a kořínků.

Ve druhé publikaci se navrhuje destrukce embrya u obroušeného ječmene působením nespecifikované kyseliny v koncentraci 0,02 % současně s přidáním kyseliny giberelelové, takže nedochází k normálnímu klíčení.

Oba postupy vyžadují obroušení ječmene a přidání kyseliny giberelelové, čímž dochází ke zvýšení rozpustných bílkovin. Ani jeden z uvedených postupů ještě nebyl využit v průmyslovém měřítku.

Francouzský patentový spis FR-1 360 637 (Stauffer Chemical Company) se týká způsobu sladování, při němž se získá slad s intenzivnějším zabarvením za současného snížení vývoje kořínků v průběhu klíčení. Podle tohoto postupu se užívá okyselená máčecí voda v množství 1 litr na 100 g

ječmene, počáteční pH vody je v rozmezí 1,7 až 2,4. Při tomto objemovém poměru mezi vodou a ječmenem zůstává pH máčecí vody dlouhou dobu na počátečních hodnotách. Ječmen, který je tedy dlouho udržován na pH nižším než 2,3 klíčí pomalu, což je však spojeno s různými nevýhodami, tak jak již bylo svrchu uvedeno.

Je tedy zřejmé, že dosud není k dispozici postup, který by byl využitelný v průmyslovém měřítku bez více nebo méně podstatných nevýhod tak, aby bylo možno získat slad s nízkým obsahem NDMA bez přidání síry v průběhu sušení vyklíčených zrn ječmena na hvozdech.

Vynález si klade za úkol rozřešit uvedený problém a navrhnout postup, využitelný v průmyslovém měřítku a umožňující získat slad s nízkým obsahem NDMA.

Podstata vynálezu

Vynález je založen na myšlence řídit okyselení v průběhu máčení tak, aby nedocházelo k modifikaci klíčení nebo docházelo jen k malým změnám klíčení a současně obsahoval slad po sušení na hvozdech jen malé množství NDMA. Současně by neměla být ovlivněna kvalita sladu ani by neměl být snížen jeho výtěžek.

Podstatu vynálezu tedy tvoří způsob sladování ječmene, který spočívá v máčení, klíčení a sušení na hvozdech, přičemž máčení zahrnuje podstupeň máčení v kyselém prostředí, jehož pH se po stabilizaci pohybuje v rozmezí 3,5 až 4,6 a objemové množství máčecí vody na množství ječmene v podstatě nemodifikuje klíčení zrn ječmene.

Při uvedených hodnotách pH není klíčení ječmene ovlivněno nebo je ovlivněno jen velmi málo. U pH, které je 3 nebo nižší již dochází k významné modifikaci klíčení a tím i kvality sladu. Slad, získaný způsobem podle vynálezu obsahuje jen malé množství NDMA, například nižší než 2 a obvykle s výhodou nižší než 1 mikrogram/kg.

Podle výhodného provedení způsobu podle vynálezu se pH stabilizuje na hodnotu v rozmezí 3,8 až 4,6 a zvláště 4,5. Výsledky jsou v podstatě stejné v celém rozmezí pH 3,5 až 4,5 a je tedy výhodnější postup provádět při poněkud vyšších hodnotách, které odpovídají přidání menšího množství kyseliny k témuž objemu máčecí vody.

Z kyselin je možno použít kyselinu chlorovodíkovou a/nebo kyselinu fosforečnou.

Poměr objemu vody k množství ječmene je s výhodou 0,8 až 1,2 litru vody na kg ječmene a s výhodou 1 litr vody na 1 kg ječmene.

Alespoň jeden podstupeň máčení se s výhodou provádí po dobu 4 až 6 hodin.

Ve všech případech lze pozorovat snížení množství rozpustných bílkovin (snížení Kolbachova indexu), avšak v případě použití kyseliny fosforečné je další výhodou snížení viskozity, které je v podstatě způsobeno snížením množství rozpustných beta-glukanů ve sladu. Přitom se kyselina fosforečná užívá za studena, takže odpadají problémy s obtížnou manipulací a zápachem, s nimiž je spojeno přidávání kyseliny fosforečné v průběhu sušení na hvozdech.

Kyselinu je možno přidávat k máčecí vodě v průběhu každého z máčecích stupňů.

Podle výhodného provedení je máčení tvořeno třemi podstupni, přičemž kyselina se přidává do prvního a druhého stupně máčení.

Součástí podstaty vynálezu tvoří rovněž slad, získaný po stimulaci klíčení, který obsahuje extrakt, tvořený z 81 až 82 % sušiny, MS, přičemž obsah rozpustných bílkovin je 4 až 5 %, viskozita je v rozmezí 1,4 až 1,5 mPas, homogenita modifikace je vyšší než 72 %, podíl NDMA je nižší než 10^{-9} a množství rozpustných beta-glukanů je nižší než 200 mg.

Další vlastnosti a výhody způsobu podle vynálezu budou zřejmé z dalšího popisu v souvislosti s výkresy.

Přehled obrázků na výkresech

Na obr. 1 je schematicky znázorněn předpokládáný vznik NDMA ve sladu, tak jak je znám z literárních údajů a také možnost tvorby NDMA z DMA v průběhu klíčení a také z DMA, vzniklého postupnou nitrosací hordeninu a nitrosohordeninu v průběhu sušení na hvozdech.

Na obr. 2 je znázorněno srovnání vývoje pH v průběhu máčení při postupu podle FR 1 360 637 a v průběhu způsobu podle vynálezu.

Na obr. 3 je graficky znázorněna filtrovatelnost kontrolního sladu (pokusy 8 a 9) a sladu, připraveného způsobem podle vynálezu.

23.01.98

- 10 -

Praktické provedení vynálezu bude osvětleno následujícími příklady, které však nemají sloužit k omezení rozsahu vynálezu.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Srovnání použití kyseliny chlorovodíkové a fosforečné

Variety ječmene:

Byly užity tři variety, které byly zpracovány v laboratorním měřítku. Ve všech případech šlo o základní varietu Printemps (Alexis, Vodka a Nomad).

Sladování v laboratorním měřítku:

Máčení:

Ječmen, který byl skladován při teplotě 13 °C se postupně třikrát máčí, mezi máčecí stupně jsou zařazena dvě období sušení na vzduchu:

první máčení	6 hodin	13 °C
první sušení	14 hodin	25 °C
druhé máčení	5 hodin	14 °C
druhé sušení	13 hodin	20 °C
třetí máčení	2 hodiny	16 °C

K dosažení kyselého pH byla do prvních dvou máčecích stupňů přidána kyselina chlorovodíková HCl nebo kyselina fosforečná, H_3PO_4 .

23.01.98

- 11 -

- kyselina chlorovodíková 37% do pH 4,5 po stabilizaci
- kyselina chlorovodíková 37% do pH 3,5 po stabilizaci
- kyselina fosforečná 85% do pH 4,5 po stabilizaci
- kyselina fosforečná 85% do pH 3,5 po stabilizaci.

K máčení se užije vždy přibližně 1 litr máčecí vody na 1 kg ječmene.

Klíčení:

Klíčení trvá přibližně 96 hodin a může být rozděleno na tři stupně:

první stupeň:	14 hodin, 20 °C
druhý stupeň:	2 hodiny, 18 °C
třetí stupeň:	80 hodin, 16 °C.

Sušení na hvozdech:

Vyklíčený ječmen se suší za postupného zvyšování teploty v následujících stupních:

1. stupeň:	3 hodiny, 62 °C
2. stupeň:	2 hodiny, 65 °C
3. stupeň:	2 hodiny, 68 °C
4. stupeň:	2 hodiny, 73 °C
5. stupeň:	1 hodina, 78 °C
6. stupeň:	2 hodiny, 80 °C
7. stupeň:	6 hodin, 83 °C.

Po sušení ve hvozdech a před uskladněním sladu se mechanicky oddělí od zrna vytvořené kořínky.

Sušení na hvozdech v průmyslovém měřítku

Část zeleného sladu variety Alexis byla sušena v průmyslovém měřítku bez spalování síry na oxid siřičitý k podpoře tvorby NDMA z prekursorů, přítomných v zeleném sladu.

Zelený slad se suší přímým zahříváním na otáčivých deskách při nízkém obsahu NO_x .

V prvním stupni se sušení provádí na horní desce 20 hodin. V průběhu této doby se počáteční teplota 55°C zvýší až na 68 až 70°C , což má za následek snížení obsahu vody v zrnech ze 42 až 10% .

Druhý stupeň se provádí na spodní desce. Tento stupeň je tvořen třemi podstupni. Nejprve se v průběhu 12 hodin teplota zvýší až na 75°C , pak se materiál 4 hodiny zahřívá na 80°C a pak se zrno chladí za současného větrání 4 hodiny. V průběhu tohoto druhého stupně se obsah vody v zrně snížil z 10 až na 4% .

Analýza sladu:

Klasické parametry:

Základní hodnoty, jimiž je možno hodnotit kvalitu sladu (extrakt, viskositá, Kolbachův index, účinnost diastázy, pH, množství rozpustných beta-glukanů) byly měřeny metodami, popsány v publikaci Analytica-EBC. Slady, sušené v laboratorním měřítku byly rovněž podrobeny příslušné analýze.

Množství nitrosodimethylaminů NDMA:

Množství těchto látek se měří ve sladech, sušených v průmyslovém měřítku nebo po oddělení kořínků.

NDMA se izoluje extrakcí 15 g sladu ve 100 ml destilované vody při teplotě 50 °C po dobu 1 hodiny za opatrného míchání. Po extrakci dichlormethanu ve zkumavce typu Chemelut se extrakt v dichlormethanu DCM zahustí na 0,5 ml a pak se 10 mikrolitrů extraktu vstříkne do systému CPG/TEA (Thermal Energy Analyser).

Obsah NDMA se vypočítá srovnáním s křivkou, získanou ze vzorků, obsahujících zvyšující se množství NDMA.

V průběhu analýz se jako vnitřní standard přidává nitrosodipropylamin NDPA.

Výsledky:

Obsah NDMA ve sladu (tabulka 1)

Nezávisle na tom, zda byla užita kyselina chlorovodíková nebo fosforečná a na výsledné kyselosti je obsah NDMA v případě sušení zeleného sladu (Alexis) nižší než obsah těchto látek v kontrolních vzorcích. Množství NDMA v zeleném sladu je přibližně dvakrát nižší.

Rozpustné bílkoviny (tabulka 2)

Množství rozpustných bílkovin (Kolbachův index) je u vzorků podle vynálezu nižší než v případě kontrolních vzorků, a to nezávisle na použité varietě ječmene, na pH i na použité kyselině.

Množství rozpustných beta-glukanů (tabulka 2)

Při okyselení máčecí vody dochází ke snížení obsahu rozpustných beta-glukanů ve sladu. Tento jev je zvláště

23.01.98

- 15 -

Pokud jde o další ukazatele kvality sladu, je zřejmé, že je možno použitím kyseliny fosforečné nebo chlorovodíkové dále ovlivnit celkovou kvalitu sladu. Jde především o snížení množství rozpustných bílkovin ve sladu, Kolbachův index.

Dále je možno snížit množství rozpustných beta-glukanů a také viskozitu sladu významným způsobem.

Okyselení máčecí vody je dále možno ovlivnit hodnotu pH výsledné záparty a účinnost diastázy.

Je tedy zřejmé, že zpracováním ječmene způsobem podle vynálezu je možno dosáhnout výhodnějších parametrů při výrobě sladu při velmi dobrých výtěžcích. Ostatní parametry sladu přitom zůstávají beze změny.

T a b u l k a 1

Vzorek	obsah NDMA ve sladu 10^{-9}
kontrola	1,8
pokusné vzorky:	
HCl, pH 4,5	0,7
HCl, pH 3,5	0,8
H ₃ PO ₄ , pH 4,5	0,7
H ₃ PO ₄ , pH 3,5	0,8

23.01.98

- 16 -

T a b u l k a 2

varieta	parametr	jedn.	kontr.	HCl pH4.5	HCl pH3.5	H3PO4 pH4.5	H3PO4 pH3.5
ALEXIS	vlhkost	%	4.5	4.4	4.3	4.2	4.2
	extrakt	%MS	81.1	81.1	81.6	81.4	81.6
	bílk.celk.	%MS	11.7	12	11.9	12.3	11.7
	bílk.rozp.	%	4.6	4.1	4	4.3	4.2
	Kolbach	%	39.3	34.2	33.6	35	35.9
	viskosita	m Pa.s	1.63	nd	nd	1.49	1.53
	β-glukany	mg/l	357	358	333	249	nd
	pH		5.89	5.69	5.82	5.75	5.81
	P.D.	WK	308	297	286	350	286
NOMAD	vlhkost	%	4.4	4	4.4	4	4.1
	extrakt	%MS	82.5	82.5	82.4	83	82.7
	bílk.celk.	%MS	9.8	9.9	10	9.8	9.9
	bílk. rozp.	%	3.9	3.6	3.6	3.7	3.8
	Kolbach	%	39.8	36.4	36	37.8	38.4
	viskosita	m Pa.s	1.69	nd	nd	1.61	1.65
	β-glukamy	mg/l	366	378	328	318	nd
	pH		6.01	5.8	5.9	5.88	5.9
	P.D.	WK	140	96	97	96	82
VODKA	vlhkost	%	4.5	4.4	4.8	4.2	4.3
	extrakt	%MS	81.4	81.6	81.8	81.8	81.9
	bílk.celk.	%MS	10.4	10.6	10.5	11	10.6
	bílk.rozp.	%	4.4	3.6	3.7	3.6	3.9
	Kolbach	%	42.3	34	35.2	32.7	36.8
	viskosita	m Pa.s	1.61	1.61	1.55	1.51	1.59
	β-glukamy	mg/l	405	380	230	192	nd
	pH		5.96	5.85	5.89	5.86	5.85
	P.D.	WK	286	200	176	261	197

nd = nebylo stanoveno

P.D. = účinnost diastázy

Příklad 2

Použité variety:

Byly použity čtyři variety (pokusy 1 až 5) v průmyslovém měřítku (200 tun sladu). Dvě z variety byly jařiny, Prisma a Alexis, druhé dvě patřily k ozimům Clarine a Plaisant.

Způsob sladování

Máčení:

Slad, skladovaný při teplotě 13 °C se postupně třikrát máčí, mezi jednotlivé máčecí stupně je zařazeno sušení zrna na vzduchu.

K 240 tunám ječmene se přidá 250 m³ vody s teplotou 12 °C. Po 6 hodinách se první máčecí voda vypustí a zrno se 11 hodin provzdušňuje vzduchem s teplotou 20 °C. V tomto stupni je obsah vody v zrně 26 až 28 %.

Při druhém máčení se užije stejného objemu vody na dobu 3 hodiny, načež se zrno 8 hodin provzdušní vzduchem s teplotou 16 °C. Po tomto stupni je obsah vody v zrně v rozmezí 35 až 37 %.

Při posledním máčení se zrno máčí 2 hodiny, načež se nechá 3 až 4 hodiny procházet vzduch s teplotou 16 °C.

Po tomto posledním máčecím stupni má zrno mít obsah vody v rozmezí 40 až 42 %.

Ve všech případech byla přidávána kyselina chlorovodíková ze zásobníku a mísená s vodou, přiváděnou k zrně.

Klíčení:

Klíčení trvalo 5 dnů v kruhových vertikálních věžích typu Tour de Maltage, přičemž zrna byla opatrně promísena každých 8 hodin tak, aby došlo k homogennímu klíčení.

Na začátku klíčení bylo namočené zrno ječmene ještě roseno tak, aby bylo dosaženo vlhkosti zrna 43 %. Teplota vstupujícího vzduchu byla udržována na 15 °C.

Sušení na hvozdech:

Vyklíčený ječmen (zelený slad) se přenese na hvozdy, kde se přímo suší při nízkém obsahu NO_x a při použití dvou kruhových desek.

První stupeň se provádí na horním hvozdu celkem 20 hodin. Počáteční hodnota teploty 55 °C byla postupně zvýšena v průběhu uvedené doby až na 68 až 70 °C, čímž došlo ke snížení obsahu vody ze 42 na 10 %.

Druhý stupeň probíhal na spodním hvozdu ve třech postupních. Nejprve byla teplota v průběhu 12 hodin zvýšena až na 75 °C, pak byla 4 hodiny udržována na 80 °C a pak bylo zrno 4 hodiny chlazeno průchodem vzduchu. V průběhu tohoto druhého stupně poklesl obsah vody v zrně z 10 na 4 %.

V případě kontrolního sladu, který byl prováděn paralelně s každým pokusem, bylo v průběhu sušení spáleno 75 kg síry.

Po sušení a před skladováním sladu byly mechanicky odstraněny kořínky. Stanovení obsahu NDMA bylo prováděno až po odstranění kořínků.

Stanovení obsahu NDMA

NDMA se izoluje extrakcí 15 g sladu ve 100 ml destilované vody při teplotě 50 °C po dobu 1 hodiny za opatrného míchání. Po extrakci dichlormethanu ve zkumavce typu Chemelut se extrakt v dichlormethanu DCM zahustí na 0,5 ml a pak se 10 mikrolitrů extraktu vstříkne do systému CPG/TEA (Thermal Energy Analyser).

Obsah NDMA se vypočítá srovnáním s křivkou, získanou ze vzorků, obsahujících zvyšující se množství NDMA.

V průběhu analýz se jako vnitřní standard přidává nitrosodipropylamin NDPA.

Výsledky:

Pozorování, prokázaná při výrobě sladu v laboratorním měřítku (pokus 1) byla vyhodnocena srovnáním se sladem, vyrobeným v průmyslovém měřítku (200 tun). Bylo prokázáno, že použitím kyseliny v máčecí vodě je možno připravit slad s nízkým obsahem nitrosaminů při jinak stejné kvalitě, jakou má kontrolní slad, vyrobený při použití síry (tabulka 3).

Tato skutečnost byla ověřena pěti pokusy v průmyslovém měřítku při použití různých typů ječmene (ozimy/jařiny).

Při přidávání různých dávek kyseliny v různých máčecích stupních bylo prokázáno, že kyselinu stačí přidávat při dvou prvních máčecích stupních. Pokud jde o objem, stačí přidat 500 litrů kyseliny k máčecí vodě k dosažení požadovaného účinku.

Při tomto objemu kyseliny, současně při použití přibližně 1 litru máčecí vody na 1 kg ječmene se pH máčecí vody po homogenizaci a stabilizaci pohybuje v rozmezí 3,8 až 4,1 v první máčecí vodě a v rozmezí 3,8 až 4,6 ve druhé máčecí vodě.

Pokus, provedený s malým množstvím kyseliny (pokus 4, v tabulce 3) prokazuje nutnost použití určitého minimálního množství kyseliny v máčecí vodě při nepřítomnosti síry při sušení. Při uvedené dávce kyseliny se pH po stabilizaci v první i druhé máčecí vodě pohybuje v rozmezí 5,1 až 4,8.

Současně s obsahem nitrosaminů byla hodnocena ještě další kritéria pro kvalitu připraveného sladu. Některé hodnoty, které se liší od hodnot pro kontrolní vzorek, jsou uvedeny v tabulce 3.

Především je množství oxidů síry velmi nízké ve sladu, získaném způsobem podle vynálezu ve srovnání s kontrolním sladem. Tato skutečnost je patrně vyvolána tím, že se při sušení na hvozdech při provádění způsobu podle vynálezu ne užívá síra.

Účinnost beta-glukanázy je vždy nejméně 400 IRVU nebo vyšší v případě sladu, který byl získán způsobem podle vynálezu, kdežto pro kontrolní vzorky je tato hodnota často řádu 300 IRVU. Uvedená čísla podporují názor, že kyselina podporuje produkci hydroláz, které za klasických podmínek sladování vznikají obtížně.

Současně kyselina patrně způsobuje také snížení Kolbachova indexu, což znamená, že slad obsahuje nižší množství rozpustných bílkovin.

Konečně v některých případech napomáhá kyselina snížit viskositu sladu.

Ostatní kritéria pro kvalitu sladu zůstávají v podstatě beze změny.

Aby bylo možno potvrdit v průmyslovém měřítku pokles množství rozpustných bílkovin, byla tato skutečnost ověřena pokusem, který spočíval ve zjištění, zda je možno upravit množství rozpustných bílkovin zpět na původní hodnotu stimulací klíčení ječmene.

Z tohoto důvodu byly provedeny pokusy 6 až 9, jejichž výsledky jsou uvedeny v tabulce 4. Byly zkoumány dvě možnosti. V případě pokusů 6 a 7 byla přidána kyselina giberálová v množství 30 mg/tuna na počátku klíčení. Ve druhém případě v pokusech 8 a 9 byla prodloužena na 5 hodin poslední fáze sušení na vzduchu. V tomto případě byly pak sledovány vlastnosti sladu po 4 až 5 dnech klíčení. V obou případech odpovídalo množství přidané kyseliny množství, které bylo použito v pokusu 3 (400 a 150 litrů). Získané výsledky jsou shrnuty v tabulce 4.

Výsledky těchto dalších pokusů potvrzují, že v případě, že se podporuje fáze klíčení, dojde k významnému zvýšení extraktu sladu a současně k návratu množství rozpustných bílkovin na původní hodnoty. Uvedené zvýšení tvoří 0,4 až 1,3 bodu v případě extraktu.

Současně je možno pozorovat významný pokles viskosity, který je vyšší než v předchozích pokusech. Toto snížení viskosity je spojeno s vyšší degradací složek buněčných stěn cytolýzou. Množství rozpustných beta-glukanů ve sladu, získaném tímto způsobem je sníženo působením endoceluláz a glukanáz více než v kontrolních sledech.

Uvedená vlastnost podstatně ovlivňuje vlastnosti zápary při filtraci podle publikace Grandclerc J. a další, 1988, Simplification de la méthode de filtration du Brassin TEPRAL, description et méthode, BIOS č. 19, str. 88 až 92. V případě srovnání směsi 50 : 50 sladů IRANIS podle vynálezu podle pokusů 8 a 9 a směsi 50 : 50 kontrolních sladů v pokusech 8 a 9, je možno při filtraci pozorovat zřetelný rozdíl. V průběhu prvních 300 sekund (fáze I na obr. 3) probíhá filtrace gravitací, pak je zapotřebí filtraci provádět pod tlakem 0,1 MPa. Z obr. 3 je zřejmé zřetelné zlepšení rychlosti filtrace v případě sladu podle vynálezu zejména ve fázi II ve srovnání s kontrolním sladem.

Současně je možno ve všech případech pozorovat zlepšenou homogenitu modifikace sladu. Toto zlepšení je zvláště zřejmé po 4 dnech klíčení, jak je zřejmé z pokusu 8. Po přidání kyseliny do máčecí vody je možno po 4 dnech klíčení získat slad se stejnou kvalitou, jako po 5 dnech za běžných podmínek sladování.

Současně dovolují fyziologické změny, probíhající v okyselené máčecí vodě omezit dýchání zrn, což zvyšuje výťažek sladu přibližně o 1 %.

Závěry

Bylo dosaženo cíle pokusu, je totiž zřejmé, že při použití kyseliny v máčecí vodě v průmyslovém měřítku je možno snížit tvorbu nitrosaminů při výrobě sladu bez použití síry při sušení na hvozdech.

Získaný slad kvalitou odpovídá běžným požadavkům, má nižší obsah oxidů síry a vyšší účinnost beta-glukanáz.

V některých případech má takto připravený slad také nižší Kolbachův index a nižší viskozitu.

Při pokusech opět zvýšit množství rozpustných bílkovin stimulací klíčení bylo možno prokázat ve srovnání s kontrolními pokusy, že současně s poklesem množství NDMA dovolí použité podmínky podstatné zvýšení množství extraktu sladu a současně podstatné snížení množství rozpustných beta-glukanů a viskozity výsledné zářary. Množství rozpustných bílkovin je při tom stejné jako množství rozpustných bílkovin v kontrolním sladu, což prokazuje, že způsob podle vynálezu dovoluje nejen snížit množství NDMA, nýbrž také současně celkově zvýšit kvalitu získaného sladu.

Vliv použitého množství máčecí vody na množství ječmene

Na obr. 2 jsou znázorněny změny pH v průběhu prvních 6 hodin máčení. Pokusy Stauffer A a Stauffer B odpovídají podmínkám, které byly uvedeny v patentovém spisu FR-1 360 637 (str. 2, pravý sloupec). Máčecí voda obsahovala 0,1 % kyseliny v pokusu A a 1 % kyseliny v pokusu B, v obou případech bylo použito 10 objemů vody na jeden objem ječmene, to znamená přibližně 1 litr máčecí vody na 100 g ječmene. Při provádění způsobu podle vynálezu bylo užito máčecí vody s obsahem 0,2 % kyseliny a 400 litrů kyseliny na 200 tun vody, která byla použita k máčení 200 tun zrna.

V následující tabulce jsou uvedeny hodnoty pH v průběhu máčení, tak jak jsou graficky znázorněny křivkami na obr. 2.

23.01.98

- 24 -

T(h)	STAUFFER A	STAUFFER B	podle vynálezu	kontrola
0,25	2,3	1,3	2,67	7,4
0,5	2,28	1,3	3,15	7,45
0,75	2,35	1,31	3,4	7,45
1	2,37	1,23	3,6	7,5
1,5	2,39	1,23	3,72	7,4
2	2,4	1,24	3,8	7,5
2,5	2,4	1,25	3,85	7,45
3	2,4	1,23	3,88	7,45
3,5	2,42	1,23	3,92	7,5
4	2,41	1,25	3,95	7,45
4,5	2,42	1,26	3,96	7,4
5	2,44	1,22	3,98	7,4
6	2,45	1,22	4,05	7,4

V pokusech Stauffer A a Stauffer B ovlivňuje pH přidaná okyselená voda. V průběhu prvních 6 hodin máčení zůstává pH na hodnotě nižší než 2,5 a 1,3. Při provádění způsobu podle vynálezu (TEPRAL) je počáteční pH 2,67, avšak po jedné hodině je přibližně 3,5 a na začátku šesté hodiny dosahuje konečné hodnoty 4,05. Je zřejmé, že poměr objemu vody na hmotnost zrna může podstatně ovlivnit puřovací schopnost ječmene, takže je možno zabránit tomu, aby zrno nebylo udržováno příliš dlouhou dobu na příliš nízké hodnotě pH. Tímto způsobem je možno se vyvarovat narušení fyziologických pochodů v průběhu klíčení. Hodnota pH se pak v průběhu dalšího máčení mění již pouze nepatrně.

23.01.98

- 25 -

T a b u l k a 3

Vliv kysel   máčecí vody na celkovou kvalitu sladu

Parametr		1 PRISMA		2 ALEXIS		3 ALEXIS		4 CLARINE		5 PLAISANT	
objem HCl	jedn.	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T
V1	litr	250	0	350	0	400	0	250	0	400	0
V2	litr	250	0	170	0	150	0	125	0	150	0
V3	litr	250	0	0	0	0	0	0	0	0	0
analýza sladu											
extrakt	% MS	81.4	81.3	82.5	83.1	82.1	82.9	80.3	79.6	80.2	79.8
Kolbach	%	37.8	40.2	34.7	38.6	37.2	38.3	30.3	30.9	37.2	43.4
b��lk.rozp.	%	4.2	4.3	3.4	3.6	3.5	3.6	3.3	3.4	4.1	4.9
Hartong 45	%	38.0	33.0	36.5	34.0	35.0	38.0	28.5	26.0	34.0	41.0
P.D.	WK	220	200	200	190	250	250	180	190	330	350
viskozita	mPas	1.46	1.46	1.59	1.65	1.51	1.58	1.58	1.60	1.51	1.52
NDMA	ppb(10 ⁻⁹)	0.5	0.5	0.5	0.8	0.9	0.5	1.7	0.8	1.4	1.2
SO2	ppm(10 ⁻⁶)	7.0	27.0	6.0	10.0	3.0	22.0	3.0	7.0	2.0	32.0
B-glukany r.	mg/l	44	85	80	45	140	160	493	550	130	140
B-glukanáza	IRVU	480	300	400	330	420	400	400	300	440	430

E = podmínky podle vynálezu

T = kontroly

23.01.98

- 26 -

T a b u l k a 4

Vliv stimulace klíčení zrna po máčení v kyselém prostředí
na výslednou kvalitu sladu

Parametr		6		7		8		9	
podmínky sladování		PRISMA		PRISMA		IRANIS		IRANIS	
		Gib +30		Gib +30		4 dny		5 dnů	
	jedn.	E	T	E	T	E	T	E	T
Analýza sladu									
extrakt	% MS	80.9	80.4	80.8	80.4	80.4	79.9	81.9	80.6
homogenita	%	72	65	75	65	84	57.0	84	77
bílk. rozp.	%	4.6	4.4	4.3	4.4	4.9	4.9	5.0	5.0
Harong 45	%	38.1	35.8	36.1	35.8	43.2	42.2	46.1	42.9
P.D.	WK	270	260	230	260	300	290	290	310
viskosita	mPas	1.50	1.59	1.49	1.59	1.46	1.52	1.46	1.50
NDMA	ppb (10 ⁻⁹)	1.6	0.9	1.2	0.9	0.2	0.2	0.1	0.2
B-glukany r	mg/l	195	240	190	240	100	180	70	130
B-glukanáza	U/kg	nd	nd	nd	nd	357	286	411	355
endocel.	mU/g	nd	nd	nd	nd	499	332	591	415

E = podmínky podle vynálezu

T = kontroly

endocel. = endocelulázy

Příklad 3

Mechanismus působení kyseliny na obsah NDMA

Variety ječmene

Vzorky vyklíčeného ječmene byly odebírány na konci fáze klíčení před sušením na hvozdech (zelený slad) v případě pokusu 3 z tabulky 3 (ALEXIS), prováděného v průmyslovém měřítku a v případě pokusů z tabulky 2 (VODKA a NOMAD), které byly prováděny v laboratorním měřítku. V každém případě byly srovnávány kontrolní vzorky zeleného sladu a vzorky, které byly máčeny v kyselém prostředí.

Způsob sladování

Způsob sladování byl prováděn tak, jak již bylo popsáno v předchozích příkladech 1 a 2.

Analýza zeleného sladu

V zeleném sladu byly prokazovány různé potenciální prekursory NDMA:

- hordenin a gramin způsobem podle publikace P. T. Slack a T. Wainwright, Hordenine is the precursor of NDMA in malt, Journal Inst. Brew., sv. 87, str. 260, 1981,
- sarkosin se extrahuje podobným způsobem jako hordenin, esterifikuje se fluordinitrobenzenem FNNB a analyzuje pomocí HPLC,
- dimethylamin DMA se extrahuje methanolem, vytvoří se derivát s fluordinitrobenzenem FDNB, analýza se provádí pomocí HPLC způsobem, uvedeným v publikaci

"Determination of aliphatic amines by HPLC", Verein Deutscher Ingenieure, srpen 1991.

Obsah NDMA v zeleném sladu byl stanoven způsobem, který byl popsán svrchu v příkladu 1.

Mimoto byl zelený slad hodnocen také vizuálně tak, aby bylo možno vyhodnotit vliv kyseliny v máčecí vodě na růst kořínků a zárodků pro lístky, vzhledem k tomu, že se tyto tkáně převážně účastní produkce aminů, které je možno považovat za prekursory NDMA.

Výsledky

Koncentrace sekundárních aminů (DMA, sarkosin) a terciárních aminů (hordenin, gramin) v zeleném sladu po sušení na hvozdech byly vyjádřeny jako podíly na miliardu, ppb, jde o podíly sušiny, které jsou shrnuty v tabulce 5.

Údaje prokazují, že gramin a sarkosin jsou v zeleném sladu vytvářeny jen ve velmi malém množství a pouze hordenin a dimethylamin je možno prokázat v měřitelných množstvích. V případě sladu, který byl připraven v průmyslovém měřítku jsou koncentrace 2 až 10x vyšší pro hordenin i pro DMA ve srovnání s průměrnými hodnotami pro slady, získané způsobem podle vynálezu.

Pokud jde o koncentrace hordeninu v zeleném sladu, je nutno uvést, že množství hordeninu, vytvořené v průběhu klíčení je o 50 až 100 % nižší v případě máčení v kyselém prostředí při pokusech, prováděných v laboratorním měřítku, kdežto u kontrolních pokusů zůstává na téže úrovni, což platí i pro pokusy, provedené v průmyslovém měřítku (varieta ALEXIS).

23.01.98

- 29 -

V případě hodnot pro DMA jsou hodnoty, získané při provádění způsobu podle vynálezu v laboratorním měřítku i v průmyslovém měřítku v souladu ve srovnání s hodnotami kontrolních sladů. Ve všech případech je koncentrace DMA ve vzorcích, odebraných po máčení v kyselém prostředí přibližně 4x nižší než koncentrace, prokázaná v kontrolních vzorcích. V případě variety NOMADE jsou naměřené hodnoty pro množství DMA v zeleném sledu po máčení v kyselém prostředí dokonce 10x nižší než hodnoty pro kontrolní vzorky.

Použití kyseliny v máčecí vodě významný vliv na množství NDMA, které se může vytvořit v průběhu klíčení zrna ani na podíl kořínků a zárodků pro lístky, které se vytvoří v průběhu tohoto klíčení.

T a b u l k a 5

Koncentrace prekursorů NDMA v zeleném sladu v ppb (10^{-9}) sušiny

aminy	VODKA		NOMAD		ALEXIS	
	laboratorní měřítko		laboratorní měřítko		průmyslové měřítko	
	kontrola	podle vynálezu	kontrola	podle vynálezu	kontrola	podle vynálezu
Sarcosin	<10	<10	<10	<10	<10	<10
DMA	124	34	493	46	3400	800
Hordénin	36 000	18 000	35 000	27 000	71 000	75 000
Gramin	<10	<10	<10	<10	<10	<10
NDMA	<0,3	0,5	0,3	0,3	0,3	0,2

200198

Závěry

Svrchu uvedené pokusy prokazují působení kyseliny, použité při máčení na množství prekursorů NDMA v zrně na konci jeho klíčení.

Množství aminů, naměřené při uvedených pokusech prokazují, že přidání kyseliny v průběhu máčení významně snižuje množství DMA v zeleném sladu, přičemž tento účinek kyseliny je plně reprodukovatelný.

Skutečnost, že v zeleném sladu je k dispozici jen malé množství uvedeného sekundárního aminu, který je hlavním prekursorem NDMA vede logicky ke snížené tvorbě NDMA při nitrosaci působením NO_x v průběhu sušení na hvozdech, což dovoluje vyloučit použití síry v tomto posledním stupni výroby sladu při zachování norem pro množství NDMA.

Vliv kyseliny na množství hordeninu v zeleném sladu je méně významný i reprodukovatelný, takže snížení množství NDMA máčením v okyselené vodě je patrně způsobeno snížením množství DMA v zeleném sladu, k němuž tímto způsobem dochází.

Tento mechanismus působení kyseliny je odlišný od mechanismu, který je spojen se snížením růstu tkání ječmene, například embrya a kořínků a tím i množství hordeninu, tak jak se uvádí v publikaci Wainwright a další, Nitrosamines in malt and beer, Journal Inst. Brew., 1986, sv. 92, str. 76. Přidáním kyseliny do máčecí vody při provádění způsobu podle vynálezu významně neovlivní podíl vytvořených kořínků a zárodků pro lístky v průběhu sladování a tím také ani množství hordeninu, vytvořeného tímto způsobem.

Paralelně provedené doplňující pokusy, jejichž cílem bylo zjistit, zda je možné opět zvýšit množství rozpustných bílkovin, které bylo v průběhu způsobu podle vynálezu sníženo prokázat, že okyselením zrna v průběhu máčení dochází k fyziologickým pochodům, jejichž výsledkem je vyšší kvalita sladu ve srovnání s kontrolními vzorky. V případě, že se okyselení máčecí vody ještě doplní stimulací zrna v průběhu klíčení, je možno získat na jedné straně slad se silným extraktem a nízkou viskositou a udržet na druhé straně množství rozpustných bílkovin v produktu. Za takto upravených podmínek je možno v průběhu čtyř dnů klíčení získat slad, jehož kvalita odpovídá sladu, získanému při použití běžných podmínek až po pěti dnech.

Současně je při použití způsobu podle vynálezu zvýšit celkový výtěžek sladu.

Zastupuje:

23.01.98

- 33 -

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Způsob sladování ječmene, zahrnující máčení, klíčení a sušení na hvozdech, v y z n a č u j í c í s e t í m, že v průběhu máčení je zařazen alespoň jeden podstupeň máčení v kyselém prostředí při pH po stabilizaci v rozmezí 3,5 až 4,6 při poměru objemu máčecí vody k množství zrna upravené pro zachování aktivity zrna v průběhu klíčení.

2. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se hodnota pH v průběhu máčení po stabilizaci pohybuje v rozmezí 3,8 až 4,6.

3. Způsob podle nároku 2, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se máčení v kyselém prostředí uskuteční ve dvou stupních, přičemž pH po stabilizaci v prvním podstupni je v rozmezí 3,8 až 4,1 a ve druhém podstupni je po stabilizaci pH v rozmezí 3,8 až 4,6.

4. Způsob podle některého z nároků 1 až 3, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se v nejméně jednom podstupni máčení v kyselém prostředí užije 0,8 až 1,2 litrů vody na kg ječmene.

5. Způsob podle nároku 4, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se užije jeden litr máčecí vody na kg ječmene.

6. Způsob podle některého z nároků 1 až 5, v y z n a č u j í c í s e t í m, že alespoň jeden podstupeň máčení trvá 4 až 6 hodin.

7. Způsob podle některého z nároků 1 až 6, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se kyselina přidává k máčecí vodě v průběhu každého podstupně máčení.

8. Způsob podle některého z nároků 1 až 6, v y - z n a č u j í c í s e t í m , že se máčení provádí ve třech podstupních, přičemž kyselina se k máčecí vodě přidává v průběhu prvního a druhého podstupně.

9. Způsob podle některého z nároků 1 až 8, v y - z n a č u j í c í s e t í m , že se k okyselení máčecí vody užije kyselina chlorovodíková.

10. Způsob podle některého z nároků 1 až 8, v y - z n a č u j í c í s e t í m , že se k okyselení máčecí vody užije kyselina fosforečná.

11. Způsob podle některého z nároků 1 až 10, v y - z n a č u j í c í s e t í m , že se stimuluje klíčení ve srovnání s běžným postupem k úpravě množství rozpustných bílkovin: na úroveň, získatelnou při použití téže variety ječmene bez máčení v kyselém prostředí při běžném klíčení.

12. Slad, v y z n a č u j í c í s e t í m , že
- extrakt tvoří 81 až 82 % sušiny,
 - obsah rozpustných bílkovin je v rozmezí 4 až 5 %,
 - viskozita je v rozmezí 1,4 až 1,5 mPas,
 - homogenita modifikace je vyšší než 72 %,
 - množství NDMA je nižší než 10^{-9} .

13. Slad podle nároku 12, v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsah rozpustných beta-glukanů ve sladu je nižší než 200 mg/l.

Zastupuje:

23.01.98

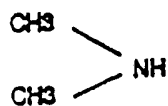
Hlavní cesty pro tvorbu NDMA v průběhu sladování

klíčení

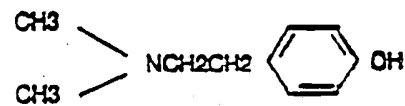
prekursory

prekursory

DMA



Hordenin



sušení na hvozdech

NO_xNO_x

Nitrosohordenin

DMA

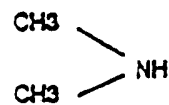
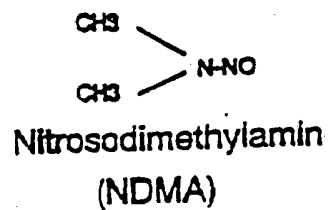
NO_x

FIGURE 1

23.01.98

1/2

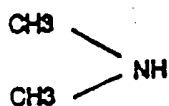
Hlavní cesty pro tvorbu NDMA v průběhu sladování

klíčení

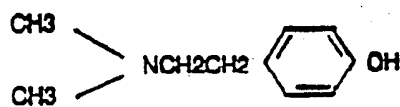
prekursory

prekursory

DMA



Hordenin



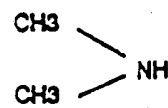
sušení na hvozdech

NOx

NOx

Nitrosohordenin

DMA



NOx

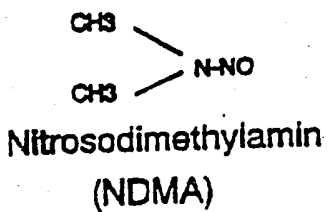


FIGURE 1

23.01.98

2/2

pH v průběhu máčení

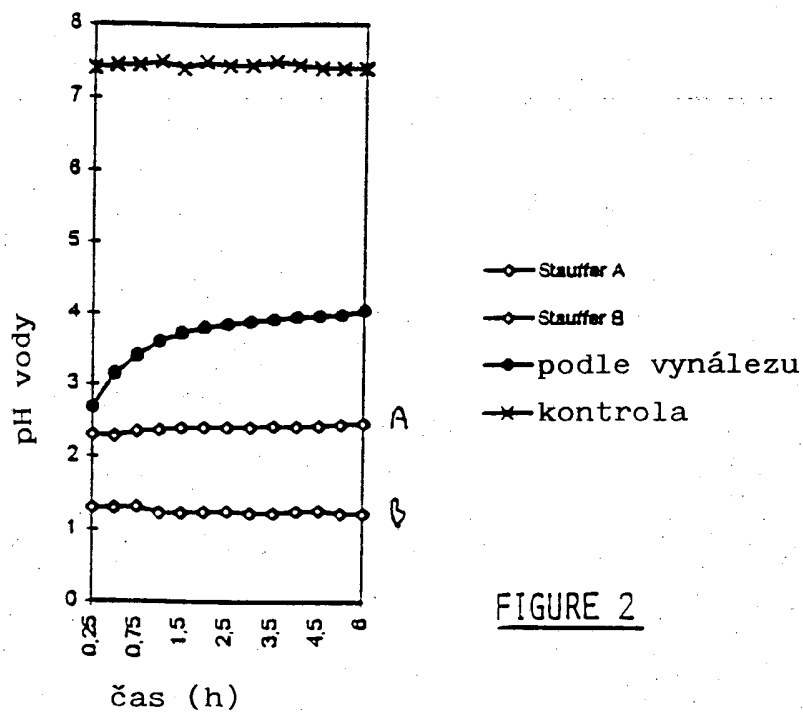


FIGURE 2

Filtrace pokusných a kontrolních vzorků (pokusy 8 a 9)

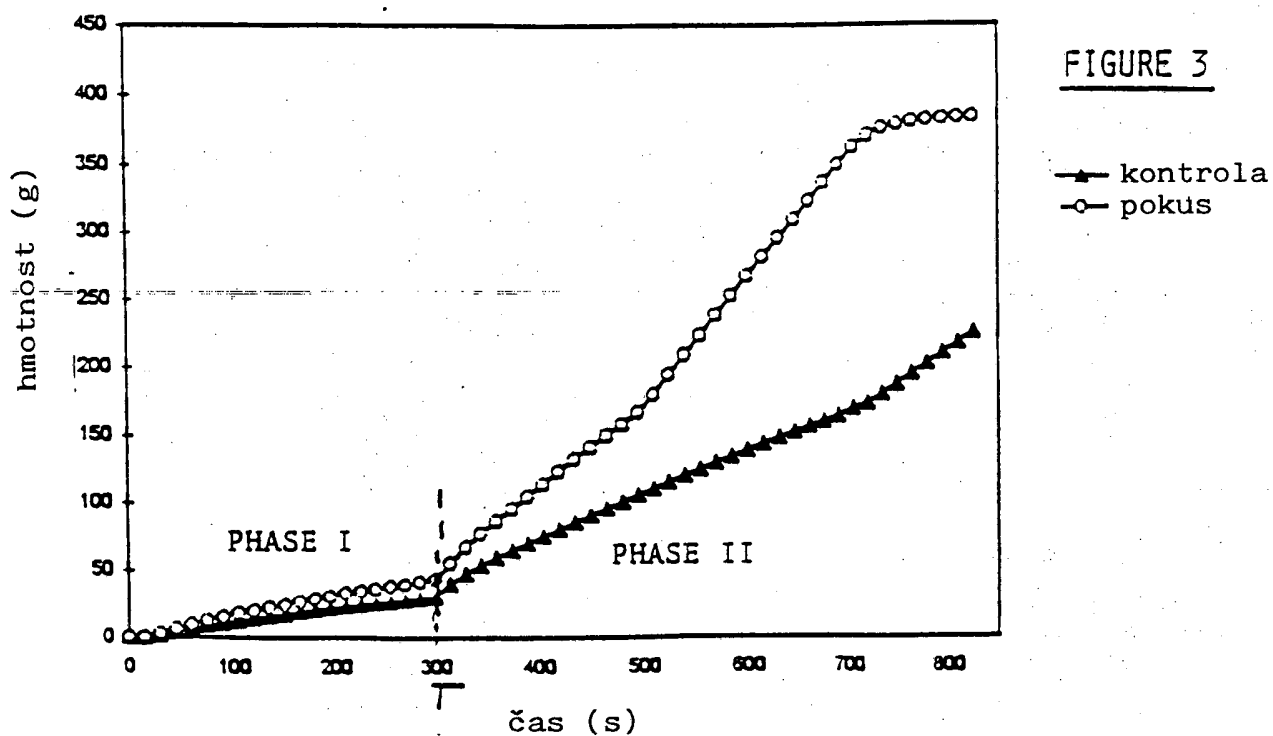


FIGURE 3