(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202091485 (13) A1

# (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
**2020.10.20**

(22) Дата подачи заявки
**2018.12.21**

(51) Int. Cl. ***C12C 1/027*** (2006.01)
***C12C 1/047*** (2006.01)
***C12C 1/125*** (2006.01)
***C12C 1/18*** (2006.01)
***C12C 7/00*** (2006.01)
***C12C 7/01*** (2006.01)
***C12C 7/04*** (2006.01)
***A23L 2/38*** (2006.01)

## (54) РАФИНИРОВАННЫЕ НАПИТКИ НА ОСНОВЕ ЗЕРНОВОЙ КУЛЬТУРЫ

(31) **17210958.9**
(32) **2017.12.28**
(33) **EP**
(86) **PCT/EP2018/086650**
(87) **WO 2019/129724 2019.07.04**

(71) Заявитель:
**КАРЛСБЕРГ А/С (DK)**

(72) Изобретатель:
**Лок Финн, Крусевич Катаржина, Марри Лючия, Скадхауге Биргитт, Кнудсен Сёрен, Вендт Тони, Олсен Оле (DK)**

(74) Представитель:
**Гизатуллина Е.М., Глухарёва А.О., Угрюмов В.М., Строкова О.В., Христофоров А.А., Гизатуллин Ш.Ф., Костюшенкова М.Ю., Лебедев В.В., Парамонова К.В. (RU)**

(57) Настоящее изобретение относится к способам получения напитка на основе зерновых культур. Настоящее изобретение относится, например, к способам замачивания и проращивания зерна зерновой культуры при непрерывной аэрации. В частности, настоящее изобретение относится к способам нагревания пророщенных зерен зерновой культуры перед мокрым помолом пророщенных зерен зерновой культуры и непосредственного перемещения пророщенного зерна без сушки в пивоварню для дальнейшей обработки. По сравнению с существующими способами способы в соответствии с настоящим изобретением существенно снижают потребление воды, потребление энергии и необходимость транспортировки.

202091485 A1

202091485 A1

# РАФИНИРОВАННЫЕ НАПИТКИ НА ОСНОВЕ ЗЕРНОВОЙ КУЛЬТУРЫ

## ОПИСАНИЕ

### Область техники, к которой относится настоящее изобретение

Настоящее изобретение в целом относится к проращиванию и получению водных экстрактов зерновой культуры (например, полученных путем затирания), в том числе к процессам, используемым для получения пива. Таким образом, настоящее изобретение относится к малозатратному, быстрому и непрерывному процессу получения пива из зерна ячменя. Способы могут быть выполнены на одном предприятии. Настоящее изобретение в равной степени применимо для проращивания и получения водных экстрактов зерна других зерновой культуры, в том числе риса, сорго, кукурузы, проса и пшеницы, а также для процессов пивоварения, предусматривающих добавки.

### Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

В коммерческих процессах осолаживания зерна ячменя проращивают или получают солод в контролируемых условиях, что обеспечивает частичную мобилизацию запасов крахмала и белка крахмального эндосперма на протяжении периода 4-6 дней. Процесс осолаживания, как правило, инициируют погружением сухого зерна ячменя в воду. Этот процесс известен как замачивание, при этом целью является не только очистка зерно, но и повышение содержания в нем влаги до приблизительно 40-45% (масс./масс.), чтобы последующая стадия мобилизации эндосперма происходила быстрее. В ходе замачивания один раз сливают воду, чтобы обеспечить повторную аэрацию зерна. Эта стадия известна как «воздушная пауза» и считается необходимой, в первую очередь потому, что погруженное зерно начинает испытывать недостаток кислорода через приблизительно 16 часов. После «воздушной паузы» в течение приблизительно 8 часов зерно повторно погружают в воду для завершения обработки замачиванием на протяжении еще одного 8-часового периода или серии стадий повторного замачивания. Двухстадийный процесс замачивания для увеличения содержания влаги в сухом зерне до 40% или выше занимает в целом приблизительно 32 часа. В некоторых солодовнях используют методики замачивания распылением.

Погруженное зерно распределяют для проращивания, во время которого ферменты, секретируемые из алейроновых и скутеллярных эпителиальных клеток, а также некоторое

количество уже имеющихся в крахмалистых клетках эндосперма разлагают клеточные стенки, крахмал и белок. Считают, что в нормальных условиях проращивания фитогормон гиббереллиновая кислота (GA) синтезируется в узловой области или в другом месте зародыша, откуда она диффундирует по градиенту воды (Fincher, 2011).

Солодовщик обычно стремится быстро индуцировать синтез как можно большего количества разлагающих крахмал ферментов в зернах. Во многих коммерческих программах осолаживания добавляют GA, чтобы ускорить процесс секреции фермента из алейронового слоя. Разлагающие крахмал ферменты, которые включают в себя α- и β-амилазы, расщепляющие разветвленную структуру крахмала ферменты и α-глюкозидазы, частично деполимеризуют запасы крахмала зерна до моносахаридов, олигосахаридов и глюкозы (Smith et al., 2005; в отношении указанных β-амилаз следует отметить, что они откладываются в крахмалистом эндосперме во время развития зерна). Продукты деполимеризации крахмала затем используются дрожжевыми клетками в качестве источника углерода и сбраживаются в пивной этанол. Диастатическая мощность является параметром качества осолаживания, который относится к уровням активности набора разлагающих крахмал ферментов, при этом для пивоварения желательны высокие значения.

Другие основные компоненты зерна ячменя включают в себя запасные белки, которые также находятся в мертвых крахмалистых клетках эндосперма и включают в себя гордеины, а также растворимые в воде и соли белки Деполимеризация их также начинается естественным образом в процессе осолаживания, но пивовар может управлять степенью разложения этих белков, так что выделяется достаточное количество пептидов и аминокислот для поддержки роста дрожжей в ходе последующей стадии проращивания в пивоварне. Однако, если разложение запасных белков происходит слишком сильно, высвобождаемые белки могут вызвать трудности в процессе пивоварения. В частности, высокие количества высвобождаемого растворимого белка могут осаждаться и образовывать нежелательную мутность в конечном пивном продукте или повышать возможность образования альдегида Штреккера во время хранения пива. В спецификациях качества осолаживания желательно адекватное содержание свободного аминного азота (FAN) для роста дрожжей во время ферментации. Индекс Кольбаха является мерой отношения растворимого белка к суммарному белку, при этом солод, характеризующийся адекватным индексом Кольбаха, является предпочтительным. Поэтому степень разложения белка является постоянной проблемой для солодовщика. В дополнение к проблеме пивного осаждения, которая может быть связана с чрезмерно

экстрагированными белками, очень высокое содержание FAN также может приводить к трудностям из-за возможности образования постороннего вкуса и запаха.

Солодовщики также пытаются индуцировать высокое содержание ферментов, которые разлагают полисахариды клеточной стенки в зерне ячменя, в частности, (1,3; 1,4)-β-глюканы и арабиноксиланы. Не полностью разложившиеся (1,3; 1,4)-β-глюканы могут быть особенно проблематичными для пивоваров, поскольку они могут быть экстрагированы из солода в растворимых формах, которые образуют высоковязкие водные растворы, замедляющие процессы фильтрации в пивоварне, и способствуют нежелательному помутнению в конечном пиве. Таким образом, низкое содержание растворимого (1,3; 1,4)-β-глюкана представляет собой важный параметр качества осолаживания, в то время как высокое содержание ферментов (1,3; 1,4)-β-глюканазы остается важным показателем качества солода.

Как отмечено выше, процесс проращивания, как правило, занимает приблизительно 4-5 суток. После контролируемых стадий проращивания влажный солод сушат от содержания влаги приблизительно 40% до 4-5%. Этот процесс сушки, называемый обжигом, является очень энергоемким и составляет основные затраты для промышленности.

Сушка в печи считалась важной частью получения пива по нескольким причинам. Одной из важных причин является то, что во время проращивания образуются проростки (также называемые «стеблями»). Проростки имеют горький вкус, который влияет на послевкусие пива, и, кроме того, проростки могут придавать пиву нежелательный цвет (см. Beer Brewing Technology (1999): 183, опубликованную Shokuhin Sangyo Shimbun, а также патент США № 9326542). После того, как зеленый солод был высушен в печи, проростки можно легко удалить, например, с использованием устройства для удаления стеблей. Согласно общему руководству по «Malts and Malting» D.E. Briggs, затем «стебли необходимо удалять [...], поскольку они являются очень гигроскопичными, богатыми растворимыми азотсодержащими веществами, содержат вещества с плохим запахом и горьким вкусом и могут быть богатыми диоксидом серы и/или нитрозаминами. Удаление стеблей следует проводить сразу после извлечения солода из печи, чтобы помочь его охлаждению, и до того, как проростки наберут влагу из воздуха, становясь слабыми и мягкими (менее хрупкими), и, таким образом, их сложнее будет разрушать и отделять» (D.E. Briggs, Malts and Malting; p695 First Edition, 1998, опубликованная Blackie & Professionals, London, ISBNO 41229800).

Высушенный в печи солод обычно имеет содержание влаги 4,5-5,0%. Высушенный в печи солод затем транспортируют из солодовни в пивоварню автомобильной дорогой,

железной дорогой или морем. Это объясняется тем фактом, что процессы осолаживания и пивоварения традиционно проводили в разных местах и часто разными корпорациями.

В пивоварне высушенный в печи солод перемалывают для разрушения зерна и полученное содержимое экстрагируют горячей водой в процессе, известном как затирание. Экстрагированный материал содержит частично разложившийся крахмал, белок и молекулы клеточных стенок, как описано выше, и далее они разлагаются эндогенными ферментами зерна, которые были экстрагированы из солода. На этой стадии некоторые пивовары добавляют дополнительные и обычно недорогие источники углерода (добавки) для поддержания последующего процесса дрожжевого брожения и для компенсации более высокой стоимости солода. Указанные добавки могут представлять собой ячмень, рис, пшеницу или другую муку зерновой культуры из непророщенного зерна, но их добавление может вызвать сопутствующее добавление гидролитических ферментов, поскольку в солоде присутствует недостаточно эндогенных ферментов для разложения компонентов добавки. Добавляемые ферменты обычно получают из неочищенных и относительно недорогих экстрактов грибковых и/или бактериальных культур. Добавление экзогенных ферментов является неправомерным в некоторых странах, в частности, где пиво должно производиться в жестко регулируемых условиях.

Дополнительное разложение крахмала и других компонентов эндосперма, экстрагированных в горячую воду, происходит в процессе, известном как осахаривание. После затирания экстракты отфильтровывают, часто в фильтрационном баке, и охлаждают. Экстракт можно кипятить в присутствии хмеля или экстрактов хмеля, и при охлаждении дрожжевые культуры добавляют для сбраживания высвободившихся сахаров в этанол. Полученное таким образом пиво обычно дозревает, и его отфильтровывают перед бутилированием. Пиво можно также газировать перед бутилированием.

## Краткое раскрытие настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к способам быстрого проращивания и получения водных экстрактов зерновой культуры. Способы значительно ускоряют процесс получения сусла для получения напитков на основе зерновой культуры с сохранением при этом потенциала для получения указанного сусла с высоким содержанием сбраживаемых сахаров и предпочтительно с низким содержанием β-глюкана и ксилана. В частности, напитки, полученные из указанного сусла, могут отличаться низким уровнем вяжущего вкуса.

Настоящее изобретение показывает, что непрерывный и интегрированный процесс пивоварения, проходящий от сухого зерна ячменя до пива, можно осуществлять на одном месте. В этом отношении настоящее изобретение обеспечивает способы объединенного замачивания и проращивания зерна зерновой культуры до содержания влаги, например, > 30%, предпочтительно > 35%, путем постоянной аэрации. Настоящее изобретение может при этом обеспечивать значительную экономию воды посредством исключения сушки солода, а также значительную экономию энергии, например, путем исключения стадии сушки в печи.

Согласно одному аспекту в соответствии с настоящим изобретением зерна погружают и инкубируют в водном растворе (как правило, в воде), при этом в указанную жидкость подают $O_2$. Как правило, указанный $O_2$ подают непрерывно во время инкубирования, которое, например, может происходить на протяжении диапазона времени от 20 до 72 часов и, как правило, позволяет зерну не только достичь соответствующего содержания влаги, но и прорасти регулируемым образом. Стадия проращивания может также включать в себя одну или несколько воздушных пауз, как правило, после стадии инкубирования в водном растворе при аэрации.

Этот процесс регулируемого проращивания можно укоротить добавлением одного или нескольких соединений, способных ускорять проращивание. Например, фитогормон гиббереллиновую кислоту (GA) можно добавлять в водную жидкость либо с самого начала, либо в ходе инкубированием. GA «активирует» экспрессию генов в ее целевых клетках, а именно в алейроновом слое и эпителии щитка зерна ячменя, в том числе генов, кодирующих эндогенные ферменты, необходимые для гидролиза крахмала, запасных белков и полисахаридов клеточных стенок. Таким образом, общее время, требуемое для замачивания и проращивания, можно снизить с более чем 5 суток в традиционных процессах пивоварения до ~2 суток или меньше с использованием настоящего изобретения. Однако согласно некоторым вариантам осуществления экзогенную GA не добавляют в ходе проращивания.

Настоящее изобретение может предусматривать стадию тепловой обработки пророщенных зерен зерновой культуры после стадий проращивания. На протяжении стадий проращивания температуру предпочтительно регулируют до предварительно определенного уровня, что, как правило, составляет менее 35°C. Согласно одному аспекту в соответствии с настоящим изобретением стадии проращивания сопровождаются стадией тепловой обработки в диапазоне температур, например, от 35 до 55°C. В соответствии с настоящим изобретением показали, что указанная тепловая обработка улучшает полезные

свойства пророщенного зерна, такие как улучшенное содержание α-амилазы и конечной декстриназы в начале проращивания.

Согласно другому аспекту в соответствии с настоящим изобретением зерновая культура является обрушенной зерновой культурой, которую обрушивают перед проращиванием для удаления по меньшей мере части указанной оболочки. Эти стадии обрушения и/или тепловой обработки оказались очень полезными для повышения содержания гидролитических ферментов в пророщенных зернах для получения сусла с высоким содержанием сбраживаемых сахаров.

После стадии проращивания и/или тепловой обработки способы могут предусматривать стадию мелкого измельчения пророщенных и/или обработанных теплом зерен зерновой культуры. Согласно особенно интересному аспекту настоящего изобретения способы в соответствии с настоящим изобретением позволяют осуществлять мелкое измельчение пророщенных зерен зерновой культуры сразу же после проращивания и/или тепловой обработки. Следовательно, способы, как правило, не предусматривают стадию сушки пророщенных зерен зерновой культуры. В частности, способы не предусматривают стадию сушки в печи пророщенных зерен зерновой культуры. Сушка в печи является очень энергоемкой стадией, и пропуск сушки в печи, таким образом, приводит к существенной экономии энергии. Как описывается выше, один важный аспект сушки в печи заключается в обеспечении легкого удаления проростков. Перед сушкой удаление проростков выполнять сложнее. Однако пророщенные зерна зерновой культуры, полученные согласно способам в соответствии с настоящим изобретением, имеют значительно меньше проростков (обычно менее 4 г на 100 г пророщенного ячменя (в пересчете на сухую массу)), и, как показано в соответствии с настоящим изобретением, стадия сушки в печи не требуется для зерновой культуры, пророщенной согласно способам в соответствии с настоящим изобретением.

Пророщенные зерна зерновой культуры можно, например, мелко измельчать подверганием пророщенных зерен зерновой культуры мокрому размалыванию, с последующей стадией получения водного экстракта, например, путем затирания при заранее определенной температуре в течение любого подходящего времени, как описывается в настоящем документе ниже в разделе «Получение водного экстракта». Превращение высвобождающихся сахаридов, например, полисахаридов, и белков можно облегчить при затирании добавлением смесей экзогенных ферментов, которые катализируют разложение крахмала, запасных белков и полисахаридов клеточной стенки. Ферменты можно частично очищать из самого ячменя, из солода или из других

источников или, в качестве альтернативы, из грибковых и/или бактериальных ферментных смесей, которые можно приобретать из коммерческих источников.

Помимо преимуществ, описываемых выше, настоящее изобретение устраняет не только необходимость сушки солода в печи, но также необходимость транспортировки высушенного зерна из солодовни в варочный цех. Благодаря объединению замачивания и проращивания в соответствии с настоящим изобретением можно сэкономить до 50% энергии, что может сильно снизить выбросы углекислого газа промышленностью. Это важно из-за усиления законодательных и налоговых давлений в большинстве стран по всему миру, направленных на сокращение выбросов углекислого газа промышленности осолаживания и пивоварения.

Кроме того, в контексте устойчивости настоящее изобретение обеспечивает полное получение пива, которое можно проводить на уже имеющемся пивоваренном оборудовании, так что требуются небольшие дополнительные капитальные вложения.

Следовательно, согласно одному аспекту представлен способ получения водного экстракта зерновой культуры, при этом указанный способ предусматривает стадии:

a) обеспечения зерен зерновой культуры;

c) воздействия на зерна зерновой культуры стадии проращивания с получением тем самым пророщенных зерен;

d) подвергания пророщенных зерен стадии тепловой обработки при температуре в диапазоне от 35 до 55°C;

e) мелкого измельчения пророщенных зерен с получением тем самым размолотых пророщенных зерен, при этом указанные пророщенные зерна характеризуются содержанием воды по меньшей мере 20%, при условии, что указанные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 20% в любой момент времени между стадиями c) и e); и

f) получения водного экстракта указанных размолотых пророщенных зерен,

с получением тем самым водного экстракта зерновой культуры.

Следует учитывать, что выражение «указанные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 20% в любой момент времени между стадиями c) и e)» предусматривает, например, что указанные зерна зерновой культуры могут характеризоваться содержанием воды выше 20% в любой момент времени в ходе стадий c), d) и e), в любой момент времени от завершения стадии c) до завершения стадии e) или в любой момент времени от завершения стадии c) до инициации стадии e).

Согласно другому аспекту представлен способ получения водного экстракта зерновой культуры, при этом указанный способ предусматривает стадии:

a) обеспечения зерен зерновой культуры, при этом зерновая культура представляет собой обрушенную зерновую культуру;

b) обработки указанных зерен зерновой культуры с удалением оболочки, при этом указанная обработка приводит к потере по меньшей мере 2% общей массы указанных зерен зерновой культуры;

c) воздействия на зерна зерновой культуры стадии проращивания с получением тем самым пророщенных зерен, при этом указанная стадия проращивания включает в себя

i. инкубирование указанных зерен в водном растворе на протяжении диапазона времени от 16 от 40 часов, при этом по меньшей мере 2 л $O_2$ на кг сухой массы зерен зерновой культуры пропускают через указанный водный раствор в час и при этом указанные зерна погружают в указанный водный раствор в ходе указанного инкубирования;

ii. удаление избытка водного раствора; и

iii. инкубирование влажных зерен на воздухе на протяжении диапазона времени от 18 до 50 часов при температуре в диапазоне от 15 до 30°C;

d) мелкого измельчения пророщенных зерен с получением тем самым размолотых пророщенных зерен, при этом указанные пророщенные зерна характеризуются содержанием воды по меньшей мере 20%; при условии, что указанные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 20% в любой момент времени между стадиями c) и d); и

e) получения водного экстракта указанных размолотых пророщенных зерен,

с получением тем самым водного экстракта зерновой культуры.

Согласно другому аспекту представлен способ получения напитка, при этом указанный способ предусматривает стадии:

i. получения водного экстракта способами, раскрываемыми в настоящем документе;

ii. переработки указанного экстракта в напиток.

Далее настоящее изобретение определяется прилагаемой к нему формулой изобретения.

## Краткое описание графических материалов

На **фиг. 1** показан пример оборудования, применимого для выполнения способа в соответствии с настоящим изобретением, в котором зерна могут быть погружены в

водный раствор и непрерывно аэрированы. Оборудование включает в себя впускное отверстие для зерен зерновой культуры (1), бак, например, бак для замачивания (2); впускные отверстия для газа, например, диффузоры из спеченной нержавеющей стали (3); насос, например, воздушный насос (4); выпускное отверстие для зерен зерновой культуры (5); насос для зерна (6); оборудование для мелкого измельчения зерен зерновой культуры, например, мельницу (7); впускное отверстие (8); емкость, например, емкость для затирания (9), и выпускное отверстие (10).

На **фиг. 2** показан пример оборудования, применимого для выполнения стадий в соответствии с настоящим изобретением, в котором зерна могут быть погружены в водный раствор и непрерывно аэрированы. Оборудование включает в себя впускное отверстие для зерен зерновой культуры (1); бак (2); решетку или сетку, например, мета-сетку (3); впускные отверстия для газа, например, диффузоры из спеченной нержавеющей стали (4) и насос, например, воздушный насос (5).

На **фиг. 3** показаны зерна голозерного ячменя после инкубирования в воде при 15°C или 25°C на протяжении либо 24 часов, либо 48 часов в указанном воздушном потоке. На **A** показана коллекция зерен, тогда как на **B** показаны отдельные типичные зерна. Следует отметить, что уже через 24 часа при 15°C зерна начинали прорастать (с видимым ростком даже при воздушном потоке только 30 л/час, и некоторые небольшие проростки становились заметными через 48 часов). Через 24 часа при 25°C зерна начинали прорастать и содержали видимый росток даже при воздушном потоке только 30 л/час. При более сильном воздушном потоке или через 48 часов становились заметными некоторые небольшие проростки.

На **фиг. 4** показаны зерна обрушенного ячменя после инкубирования в воде при 15°C или 25°C на протяжении либо 24 часов, либо 48 часов в указанном воздушном потоке. На **A** показана коллекция зерен, тогда как на **B** показаны отдельные типичные зерна.

На **фиг. 5** показана ферментативная активность после 24 часов инкубирования при 25°C в воде с аэрацией (90 л/час/кг) (WA) с последующим 18-часовым инкубированием при 25°C в воздухе с аэрацией (90 л/час/кг) (A) с последующей воздушной паузой в атмосферном воздухе при различных температурах (25-40-50-60°C) в течение 6 часов (серый цвет) или 24 часов (черный цвет) в отношении активности A) α-амилазы, B) β-амилазы и C) свободной конечной декстриназы для обрушенного ячменя.

На **фиг. 6** показана ферментативная активность после 24 часов инкубирования при 25°C в воде с аэрацией (90 л/час/кг) (WA) с последующим 24-часовым инкубированием при 25°C в воздухе с аэрацией (90 л/час/кг) (A) с последующими 2 (серый цвет) или 4

(черный цвет) дополнительными часами аэрации при различных температурах (40, 50, 60°C) в отношении активности A) α-амилазы, B) β-амилазы и C) свободной конечной декстриназы для обрушенного ячменя.

На **фиг. 7** показан эффект объединения различных отдельных обработок для оптимизации продуцирования гидролитических ферментов в зернах ячменя, инкубируемых в баке при аэрации (обработка 1, 48 часов WA замачивания (серый цвет), 48 часов инкубирования в воде, содержащей 0,01% $H_2O_2$, 1000 нМ GA3 и 0,01% противовспенивающего средства с аэрацией с воздухом 90 л/час/кг, при 25°C (WA); обработка 2, обрушение 24 часа WA + 24 часа A замачивания, черный цвет: 24 часа инкубирования в водопроводной воде, содержащей 0,01% $H_2O_2$, 1000 нМ GA3 и 0,01% противовспенивающего средства, при аэрации с воздухом 90 л/час/кг, с последующим 24-часовым инкубированием в воздухе при аэрации с воздухом 90 л/час/кг при 25°C). Цифры 1-10 указывают на результаты разных сортов ячменя.

На **фиг. 8** показан % потери массы проростков, удаленных как у обрушенного ячменя, так и голозерного ячменя, пророщенного путем инкубирования в водном растворе при аэрации в течение 48 часов (48 часов WA), и ячменя, пророщенного с помощью условий стандартного замачивания в течение 96 часов (96-часовое осолаживание).

На **фиг. 9** показано содержание NDMA в непророщенном ячмене, в ячмене, пророщенном способами в соответствии с настоящим изобретением (солод 1a), и в 3 различных традиционных солодах (солод 1b, солод 2 и солод 3).

На **фиг. 10** показан пример процесса затирания с замоченными, пророщенными и размолотыми мокрым помолом зернами.

На **фиг. 11** показана диаграмма фильтруемости сусла, которое было получено из зерен, пророщенных при варьирующей аэрации в присутствии или отсутствие смеси ферментов для пивоварения Ultraflo Max (UFM).

На **фиг. 12** показана диаграмма содержания сбраживаемых сахаров в сусле, полученном из зерен, пророщенных в течение 48 часов при 25°C при варьирующих условиях аэрации. Образцы, дополненные смесью ферментов для пивоварения Ultraflo Max, маркируют «UFM».

**Определения**

Используемый в настоящем документе термин «приблизительно» в отношении числовых значений предпочтительно означает ± 10%, более предпочтительно ± 5%, еще более предпочтительно ± 1%.

Используемый в настоящем документе термин «добавка» относится к источникам богатого углеродом сырья, добавляемым в ходе получения пива. Добавкой может быть непророщенное зерно зерновой культуры, которое может быть размолото вместе с пророщенными зернами, полученными в соответствии с настоящим изобретением. Добавкой также может быть сироп, сахар или подобное.

Используемый в настоящем документе термин «росток» относится к эмбриональной растущей почке, которая видна на фазе проращивания зерна зерновой культуры.

Используемый в настоящем документе термин «содержание воды» зерна относится к % воды масс./масс. в указанном зерне.

Используемый в настоящем документе термин «пророщенное зерно» относится к зернам с развивающимся видимым ростком, предпочтительно ростком длиной по меньшей мере 1 мм, таким как по меньшей мере 2 мм.

Используемый в настоящем документе термин «инициация проращивания» относится к моменту времени, когда зерна ячменя с содержанием воды менее 15% вводят в контакт с достаточным количеством воды для инициации проращивания.

Используемый в настоящем документе термин «β-глюкан», если не указано иное, относится к полимеру клеточной стенки зерновой культуры «(1,3; 1,4)-β-глюкану».

Подобным образом, используемый в настоящем документе термин «ксилан», если не указано иное, относится к полимеру клеточной стенки зерновой культуры «арабиноксилану».

Используемые в настоящем документе термины «высушенный в печи солод» и «обожженный солод» относятся к пророщенных зернам зерновой культуры, которые были высушены с помощью сушки в печи. Высушенный в печи солод, как правило, характеризуется содержанием воды от приблизительно 4 до 5%.

Используемый в настоящем документе термин «проросшее зерно» относится к зерну, у которого развился видимый росток и видимый стебель.

Используемый в настоящем документе термин «замачивание» относится к процессу повышения содержания воды в зерновке зерновой культуры.

Используемый в настоящем документе термин «β-глюканаза» относится к ферментам с потенциалом деполимеризации β-глюкана зерновой культуры. Следовательно, если не указано иное, термин «β-глюканаза» относится к эндо- или экзоферменту или их смеси, характеризующимся (1,3; 1,4)-β- и/или (1,4)-β-глюканазной активностью.

Используемый в настоящем документе термин «ксиланаза» относится к ферментам с потенциалом разложения основных и боковых цепей ксилана и арабиноксилана. Следовательно, если не указано иное, термин «ксиланаза» относится к ферменту или смеси ферментов, характеризующимся ферментативными активностями, полученными одним или несколькими следующими классами ферментов: эндо-1,4-ксиланаза; экзо-1,4-ксиланаза; арабинофуранозидаза; эстераза феруловой кислоты.

Используемый в настоящем документе термин «ферментативные активности зерен зерновой культуры» относится к активностям, измеренным в муке, полученной из определенного типа зерна. Например, 10 ед./г α-амилазной активности на грамм зерна зерновой культуры относится к указанной α-амилазной активности (10 ед.), измеренной в водном экстракте, полученном из 1 г муки (в пересчете на сухое вещество) из указанной зерновой культуры. α-Амилазную активность определяют при помощи K-CERA 01/12 (протокол и набор, доступные от Megazyme, Ирландия). Активность конечной декстриназы определяют при помощи T-LDZ1000 (протокол и набор, доступные от Megazyme, Ирландия).

Объем $O_2$, как указано в данном документе, относится к объему $O_2$ при 1 атмосфере и 20°C. Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения, если $O_2$ содержится в смеси газов, тогда можно определять общий объем газовой смеси, и объем $O_2$ можно рассчитывать как процент от общего объема, который составляет $O_2$. В качестве примера, тогда атмосферный воздух содержит 21% $O_2$. Таким образом, объем $O_2$ в атмосферном воздухе при использовании в настоящем документе составляет 21% общего объема атмосферного воздуха.

## Подробное раскрытие настоящего изобретения

### Зерна зерновой культуры

Способы в соответствии с настоящим изобретением представляют собой способы получения водного экстракта зерновой культуры или способы получения напитка из указанного водного экстракта зерновой культуры. Способы в соответствии с настоящим изобретением предусматривают стадию проращивания, которая предусматривает инкубирование зерен зерновой культуры в водном растворе. Следует отметить, что смесь водного раствора и зерен зерновой культуры можно считать суспензией.

Зерно зерновой культуры может быть зерном любой зерновой культуры, например, зерновой культуры, выбранной из группы, состоящей из ячменя, риса, сорго, маиса, проса, тритикале, ржи, овса и пшеницы. Согласно предпочтительным вариантам осуществления

настоящего изобретения зерна зерновой культуры представляют собой зерна ячменя. Указанные зерна могут быть зернами любого сорта ячменя, таким как любой из сортов ячменя, описанных в настоящем документе ниже в разделе «Ячмень».

Зерна зерновой культуры могут характеризоваться относительно низким содержанием воды перед инкубированием в указанном водном растворе. Например, зерна зерновой культуры могут характеризоваться содержанием воды максимум 30%, предпочтительно максимум 20%, например, максимум 15%, например, в диапазоне от 5 до 15%.

Перед инкубированием в указанном водном растворе зерно зерновой культуры может быть подвергнуто одной или нескольким стадиям противомикробной обработки. Указанная противомикробная обработка может быть любой пригодной противомикробной обработкой, которая не ухудшает потенциал зерен к прорастанию. Противомикробная обработка может, например, представлять собой обработку одним или несколькими противомикробными средствами. Указанные противомикробные средства могут быть любым противомикробным средством, которое при используемых концентрациях является нетоксичным для зерен зерновой культуры. Например, противомикробное средство может быть хлорсодержащим соединением, например, гипохлоритом. Противомикробное средство может также быть пероксидом, например, пероксидом водорода и/или перуксусной кислотой. Неограничивающие примеры пригодных коммерческих противомикробных средств включают в себя P3-Hypochloran®, P3-Peroxysan® или P3-Oxonia Active 150®. Зерна зерновой культуры можно обрабатывать гипохлораном при концентрации в диапазоне от 0,1 до 10%, например, в диапазоне от 0,5 до 5%, например, приблизительно 1%, например, 1%. Зерна зерновой культуры можно обрабатывать указанным гипохлораном на протяжении диапазона времени от 15 минут до 10 часов, например, в диапазоне от 1 до 5 часов, например, на протяжении диапазона времени от 2 до 4 часов. После обработки зерна зерновой культуры можно промывать один или несколько раз.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения, противомикробную обработку проводят путем инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе, содержащем противомикробное средство. Сразу после указанного инкубирования можно инициировать стадию проращивания, например, путем инициации аэрации. Таким образом, согласно таким вариантам осуществления не требуется менять водный раствор, и тот же водный раствор можно использовать для противомикробной обработки и по меньшей мере в начале следующей стадии проращивания. Это, в

частности, может быть в случае, если противомикробное средство представляет собой пероксид, например, пероксид водорода.

Может быть предпочтительно, чтобы указанные зерна зерновой культуры не были подвергнуты проращиванию перед инкубированием в водном растворе в соответствии с настоящим изобретением. Следовательно, может быть предпочтительно, чтобы зерна зерновой культуры не были подвергнуты стадии предварительного проращивания.

Как описывается выше, зерно зерновой культуры может представлять собой зерно любой зерновой культуры. Некоторые зерна зерновой культуры содержат оболочку, тогда как зерна другой зерновой культуры являются голыми. Зерна обрушенной зерновой культуры можно обрабатывать для удаления по меньшей мере части оболочки перед стадией проращивания. В целом, обработка для удаления оболочки не требуется, если используется зерно голозерной зерновой культуры. Голозерные зерновые культуры включают в себя, например, голозерные сорта ячменя и пшеницы.

Зерна обрушенной зерновой культуры можно обрабатывать для удаления оболочки путем воздействия на зерна зерновой культуры физической обработкой, удаляющей оболочку. Указанная физическая обработка может быть, например, выбрана из группы, состоящей из шлифовки, обработки песком, обрушения и сглаживания. Предпочтительно физическая обработка приводит к потере оболочки. Потеря оболочки может быть определена как потеря общей массы. Таким образом, физическая обработка предпочтительно приводит к потере по меньшей мере 2%, например, по меньшей мере 3%, общей массы зерен зерновой культуры. Например, указанная физическая обработка может приводить к потере в диапазоне от 2 до 7%, например, к потере в диапазоне от 3 до 6%, общей массы зерен зерновой культуры.

**Проращивание**

Способы в соответствии с настоящим изобретением предусматривают стадию проращивания зерен зерновой культуры. Стадия проращивания может включать в себя стадию инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе, как правило, при аэрации. Стадия проращивания включает в себя стадию инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе, которую необязательно выполняют при аэрации. Согласно некоторым вариантам осуществления стадия проращивания включает в себя стадию инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе без аэрации. Согласно другим вариантам осуществления стадию инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе выполняют при аэрации.

*Инкубирование в водном растворе при аэрации*

Зернами зерновой культуры могут быть зерна любой зерновой культуры, описываемые в настоящем документе выше в разделе «Зерна зерновой культуры», а водный раствор может быть любым из водных растворов, описываемых в настоящем документе ниже в разделе «Водный раствор».

Может быть предпочтительным, чтобы в ходе указанного инкубирования в водном растворе зерна зерновой культуры были полностью покрыты указанным водным раствором в ходе всего инкубирования. Таким образом, зерна зерновой культуры, например, могут быть инкубированы по меньшей мере в 1 л, предпочтительно по меньшей мере в 1,5 л, более предпочтительно по меньшей мере в 2 л, например, в диапазоне от 1 л до 10 л, например, в диапазоне от 1 л до 5 л, например, в диапазоне от 1,5 л до 3 л, водного раствора на кг зерна зерновой культуры (в пересчете на сухую массу).

Таким образом, согласно некоторым вариантам осуществления зерна зерновой культуры погружают в водный раствор в ходе всего инкубирования в указанном водном растворе.

Согласно другим вариантам осуществления зерна зерновой культуры поглощают водный раствор таким образом, что в конце инкубирования в указанном водном растворе весь указанный водный раствор поглощается зернами зерновой культуры.

Согласно другим вариантам осуществления водный раствор, оставшийся после инкубирования при аэрации, может быть слит с зерен зерновой культуры.

Согласно некоторым вариантам осуществления предпочтительно, чтобы после инкубирования зерен зерновой культуры в указанном водном растворе бóльшая часть, например, по меньшей мере 70%, предпочтительно по меньшей мере 80%, более предпочтительно по меньшей мере 90%, еще более предпочтительно по меньшей мере 95%, например, по сути, все зерна зерновой культуры, содержала видимый росток длиной по меньшей мере 1 мм.

Согласно некоторым вариантам осуществления после инкубирования зерен зерновой культуры в указанном водном растворе бóльшая часть, например, по меньшей мере 70%, например, по меньшей мере 80%, например, по меньшей мере 90%, например, по меньшей мере 95%, например, по сути, все зерна зерновой культуры, содержала один или несколько видимых проростков.

Согласно некоторым вариантам осуществления после инкубирования зерен зерновой культуры в указанном водном растворе бóльшая часть, например, по меньшей мере 70%, например, по меньшей мере 80%, например, по меньшей мере 90%, например,

по меньшей мере 95%, например, по сути, все зерна зерновой культуры, содержала один или несколько видимых проростков и видимый стебель.

Согласно некоторым вариантам осуществления после инкубирования зерен зерновой культуры в указанном водном растворе зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды по меньшей мере 30%, предпочтительно по меньшей мере 35%, более предпочтительно по меньшей мере 37%, например, в диапазоне от 35 до 60%, например, в диапазоне от 35 до 50%, например, в диапазоне от 37 до 60%, например, в диапазоне от 37 до 50%. Согласно некоторым вариантам осуществления зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды по меньшей мере 30% после инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе, например, по меньшей мере 31%, например, по меньшей мере 32%, например, по меньшей мере 33%, например, по меньшей мере 34%, например, по меньшей мере 35%, например, по меньшей мере 36%, например, по меньшей мере 37%, например, по меньшей мере 38%, например, по меньшей мере 39%, например, по меньшей мере 40%, например, по меньшей мере 45%, например, по меньшей мере 46%, например, по меньшей мере 47%, например, по меньшей мере 48%, например, по меньшей мере 49%, например, по меньшей мере 50%, например, по меньшей мере 51%, например, по меньшей мере 52%, например, по меньшей мере 53%, например, по меньшей мере 54%, например, по меньшей мере 55%, например, по меньшей мере 56%, например, по меньшей мере 57%, например, по меньшей мере 58%, например, по меньшей мере 59%, например, 60%.

Содержание воды зерен зерновой культуры может быть определено путем определения массы зерен зерновой культуры с последующей сушкой указанных зерен зерновой культуры и определением массы высушенных зерен зерновой культуры. Разницу в массе влажных и сухих зерен зерновой культуры считают водой и содержание воды представляют как массу воды, поделенную на общую массу зерен зерновой культуры (влажных зерен зерновой культуры). Содержание воды, представленное в %, таким образом, представляет собой масс./масс. %.

Зерна зерновой культуры могут быть инкубированы в указанном водном растворе на протяжении времени, достаточного для обеспечения проращивания большинства указанных зерен зерновой культуры, как описывается выше. Зерна зерновой культуры также могут быть инкубированы в указанном водном растворе на протяжении времени, достаточного для получения упомянутого выше содержания воды. Как правило, зерна зерновой культуры инкубируют в водном растворе на протяжении по меньшей мере 20 часов, например, по меньшей мере 24 часов. Как правило, зерна инкубируют в указанном

водном растворе на протяжении максимум 72 часов, например, на протяжении максимум 60 часов, например, на протяжении максимум 48 часов.

Согласно некоторым вариантам осуществления зерна зерновой культуры инкубируют в водном растворе при аэрации на протяжении диапазона времени от 20 до 72 часов, предпочтительно на протяжении диапазона времени от 40 до 55 часов, более предпочтительно на протяжении диапазона времени от 45 до 50 часов. Это может иметь место, в частности, в вариантах осуществления настоящего изобретения, если проращивание не предусматривает стадию воздушной паузы.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения стадия проращивания включает в себя инкубирование в водном растворе с последующей воздушной паузой. Согласно таким вариантам осуществления инкубированием в водном растворе выполняют на протяжении времени, достаточного для обеспечения достаточной ферментативной активности в пророщенных зернах зерновой культуры после воздушной паузы. Ферментативная активность предпочтительно является такой, как описывается в настоящем документе ниже в разделе «Пророщенные зерна зерновой культуры».

Согласно таким вариантам осуществления зерна зерновой культуры, например, могут быть инкубированы в водном растворе на протяжении по меньшей мере 16 часов, например, по меньшей мере 20 часов. Как правило, зерна инкубируют в указанном водном растворе на протяжении максимум 72 часов, например, на протяжении максимум 40 часов, например, на протяжении максимум 35 часов, например, на протяжении максимум 30 часов. Таким образом, согласно некоторым вариантам осуществления зерна зерновой культуры инкубируют в указанном водном растворе на протяжении диапазона времени от 20 до 72 часов, например, на протяжении диапазона времени от 20 до 60 часов, например, на протяжении диапазона времени от 20 до 48 часов, например, на протяжении диапазона времени от 20 до 30 часов, например, на протяжении диапазона времени от 22 до 26 часов.

Согласно некоторым вариантам осуществления зерна зерновой культуры инкубируют в водном растворе при аэрации на протяжении диапазона времени от 16 от 40 часов, предпочтительно на протяжении диапазона времени от 20 до 35 часов, например, в диапазоне от 20 до 30 часов, более предпочтительно на протяжении диапазона времени от 22 до 26 часов. Это может иметь место, в частности, в вариантах осуществления настоящего изобретения, если проращивание дополнительно включает в себя стадию воздушной паузы.

Зерно зерновой культуры может быть инкубировано при любой применимой температуре, однако может быть предпочтительно, чтобы инкубирование выполнялось при температуре, достаточно высокой для обеспечения быстрого повышения содержания

воды. Как показано в настоящем документе ниже в примере 3, повышение температуры может существенно активизировать повышение содержания воды. Таким образом, может быть предпочтительно, чтобы зерна зерновой культуры инкубировали в указанном водном растворе при температуре по меньшей мере 15°C, например, по меньшей мере 20°C, например, по меньшей мере 25°C. В частности, зерна зерновой культуры могут быть инкубированы при температуре в диапазоне от 10 до 35°C, предпочтительно в диапазоне от 15 до 30°C, например, в диапазоне от 20 до 30°C, например, в диапазоне от 25 до 30°C, например, приблизительно 25°C.

В частности, согласно вариантам осуществления настоящего изобретения, при которых зерна зерновой культуры инкубируют при температуре в диапазоне от 20 до 30°C, указанные зерна зерновой культуры могут быть инкубированы на протяжении диапазона времени от 20 до 48 часов, например, в диапазоне от 16 до 30 часов.

Как описывается в настоящем документе выше, указанные зерна зерновой культуры зачастую инкубируют в указанном водном растворе, при этом через водный раствор пропускают $O_2$. Это также называют инкубированием указанных зерен зерновой культуры в водном растворе при аэрации. Предпочтительно, $O_2$ пропускают через водный раствор непрерывно в ходе всего инкубирования. Указанный $O_2$ можно пропускать через водный раствор любым применимым образом, однако часто газ, содержащий $O_2$, вводят снизу и/или в нижнюю часть контейнера, содержащего водный раствор с зернами зерновой культуры. Как правило, газ будет диффундировать через смесь водного раствора и зерна зерновой культуры и выходить из смеси водного раствора и зерна зерновой культуры из верхней части водного раствора. В частности, инкубирование может быть выполнено в устройстве, описываемом в настоящем документе ниже в разделе «Устройство». Также возможно, что тяжелые газы, в частности, $CO_2$, выводятся из нижней части контейнера, благодаря чему свежий воздух/$O_2$ может подаваться из верхней части контейнера.

Указанный $O_2$ может быть добавлен в указанный водный раствор в виде чистого $O_2$. Зачастую, однако, указанный $O_2$ включают в газовую смесь. Согласно одному варианту осуществления указанный $O_2$ включают в атмосферный воздух. Таким образом, способ в соответствии с настоящим изобретением может предусматривать пропускание атмосферного воздуха через указанный водный раствор.

Как правило, по меньшей мере 2 л, предпочтительно по меньшей мере 3 л, более предпочтительно по меньшей мере 4 л, еще более предпочтительно по меньшей мере 5 л, еще более предпочтительно по меньшей мере 6 л $O_2$ проходит через указанный водный раствор на кг зерен зерновой культуры в час. Масса указанных зерен зерновой культуры

является сухой массой. Например, в диапазоне от 2 до 100 л, например, в диапазоне от 2 до 75 л, таком как диапазон от 2 до 50 л, например, в диапазоне от 4 до 100 л, например, в диапазоне от 4 до 75 л, таком как диапазон от 4 до 50 л, например, в диапазоне от 6 до 100 л, например, в диапазоне от 6 до 75 л, например, в диапазоне от 6 до 50 л, $O_2$ проходит через указанную смесь водного раствора и зерна зерновой культуры на кг зерен зерновой культуры (в пересчете на сухую массу) в час.

Согласно одному варианту осуществления предпочтительно, чтобы по меньшей мере 20 г $O_2$ на кг зерна зерновой культуры, более предпочтительно по меньшей мере 30 г $O_2$ на кг зерна зерновой культуры, еще более предпочтительно по меньшей мере 40 г $O_2$ на кг зерна зерновой культуры, например, в диапазоне от 40 до 100 г $O_2$ на кг зерна зерновой культуры, например, в диапазоне от 40 до 80 г $O_2$ на кг зерна зерновой культуры, например, 60 г $O_2$ на кг зерна зерновой культуры, проходило через указанную смесь водного раствора и зерна зерновой культуры в час. Масса зерна зерновой культуры представлена как сухая масса. В ходе инкубирования зерна зерновой культуры, как правило, поглощают по меньшей мере некоторое количество водного раствора, и, следовательно, концентрация $O_2$ в водном растворе, как правило, будет варьировать в ходе инкубирования. Как правило, количество $O_2$, подаваемое на л водного раствора в час, находится в диапазоне от 40 до 200 г, предпочтительно в диапазоне от 50 до 150 г.

Как отмечено выше, зачастую через водный раствор пропускают атмосферный воздух. Таким образом, способ может предусматривать пропускание по меньшей мере 10 л, предпочтительно по меньшей мере 15 л, более предпочтительно по меньшей мере 20 л, еще более предпочтительно по меньшей мере 25 л, еще более предпочтительно по меньшей мере 30 л атмосферного воздуха через указанный водный раствор на кг зерен зерновой культуры в час. Масса указанных зерен зерновой культуры является сухой массой. Например, в диапазоне от 10 до 500 л, например, в диапазоне от 10 до 375 л, например, в диапазоне от 10 до 250 л, например, в диапазоне от 20 до 500 л, например, в диапазоне от 20 до 375 л, например, в диапазоне от 20 до 250 л, например, в диапазоне от 30 до 500 л, например, в диапазоне от 30 до 375 л, например, в диапазоне от 30 до 250 л атмосферного воздуха пропускают через указанный водный раствор на кг зерен зерновой культуры (в пересчете на сухую массу) в час. Согласно одному варианту осуществления в диапазоне от 50 до 110 л, предпочтительно 80 до 100 л атмосферного воздуха пропускают через указанный водный раствор на кг зерен зерновой культуры (в пересчете на сухую массу) в час.

*Воздушная пауза*

В дополнение к указанному инкубированию в водном растворе при аэрации зерна зерновой культуры также могут быть инкубированы в воздухе (например, в отсутствие водного раствора). Стадия инкубирования в воздухе также может быть названа «воздушной паузой». Таким образом, после инкубирования в водном растворе при аэрации оставшийся водный раствор может быть слит, и зерна зерновой культуры могут быть инкубированы в воздухе. В качестве альтернативы, после инкубирования в водном растворе при аэрации весь водный раствор поглощается зернами зерновой культуры, которые затем могут быть инкубированы в воздухе. Указанное инкубирование в воздухе предпочтительно выполняют при аэрации, например, может быть пропущен $O_2$ через контейнер, включающий в себя зерна зерновой культуры. Предпочтительно, $O_2$ пропускают через указанный контейнер в ходе всей воздушной паузы. Количество $O_2$, подлежащее пропусканию через контейнер, включающий в себя зерна зерновой культуры, может быть таким же количеством $O_2$, что и пропускаемое через водный раствор, как описывается выше. $O_2$ может быть обеспечен в форме газовой смеси, такой как, например, атмосферный воздух.

Воздушная пауза может быть выполнена на протяжении любого подходящего количества времени, например, на протяжении диапазона времени от 18 до 50 часов. Согласно предпочтительному варианту осуществления воздушную паузу выполняют на протяжении по меньшей мере 20 часов, предпочтительно на протяжении по меньшей мере 22 часов, более предпочтительно на протяжении диапазона времени от 20 до 38 часов, например, на протяжении диапазона времени от 20 до 35 часов, предпочтительно в диапазоне от 20 до 30 часов, например, в диапазоне от 22 до 26 часов.

Воздушная пауза может быть выполнена при окружающих температурах, таких как температура в диапазоне от 20 до 30°C, таких как, например, в диапазоне от 23 до 27°C, предпочтительно при приблизительно 25°C. В частности, воздушная пауза может быть выполнена на протяжении по меньшей мере 20 часов, например, в диапазоне от 20 до 30 часов, при температуре в диапазоне от 20 до 30°C.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения воздушную паузу выполняют при потоке воздуха в диапазоне от 85 до 95 л/час, например, в диапазоне от 87 до 93 л/час, например, приблизительно 90 л/час, атмосферного воздуха или газовой смеси, включающей в себя приблизительно 20% $O_2$ на кг сухого зерна зерновой культуры. Согласно другим вариантам осуществления настоящего изобретения воздушную паузу выполняют при потоке воздуха в диапазоне от 17 до 21 л/час, например,

в диапазоне от 18 до 20 л/час, например приблизительно 19 л/час, $O_2$ на кг сухого зерна зерновой культуры.

В ходе воздушной паузы дополнительная вода или водный раствор могут быть добавлены в зерна зерновой культуры, например, путем орошения или разбрызгивания. Однако в ходе воздушной паузы зерна зерновой культуры не должны быть погружены в водный раствор.

*Способы проращивания*

Согласно одному варианту осуществления зерна зерновой культуры могут быть пророщены с использованием стандартным способов, известных в уровне техники для получения пророщенных зерен. Продолжительность указанного проращивания предпочтительно может составлять максимум 96 часов, более предпочтительно максимум 72 часа. Проращивание также может включать в себя инкубирование в водном растворе при аэрации и необязательно последующую воздушную паузу, как определяется выше.

Проращивание также может включать в себя несколько стадий инкубирования в водном растворе и/или несколько стадий воздушной паузы. Как правило, первая стадия представляет собой стадию инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе при аэрации, как описывается выше. Таким образом, проращивание может включать в себя следующие стадии или состоять из следующих стадий:

- инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе при аэрации, как описывается выше в разделе «Инкубирование в водном растворе при аэрации»;
- инкубирования зерен зерновой культуры в воздухе, как описывается выше в разделе «Воздушная пауза».

Согласно такому варианту осуществления инкубирование зерен зерновой культуры в водном растворе при аэрации, например, может быть выполнено на протяжении диапазона времени от 16 до 30 часов, например, в диапазоне от 20 до 30 часов, например, в диапазоне от 22 до 26 часов, при этом воздушная пауза может быть выполнена на протяжении диапазона времени от 20 до 38 часов, например, в диапазоне от 22 до 35 часов, например, в диапазоне от 20 до 30 часов, например, в диапазоне от 22 до 26 часов.

Проращивание также может включать в себя следующие стадии или состоять из следующих стадий:

- инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе при аэрации, как описывается выше в разделе «Инкубирование в водном растворе при аэрации»;
- инкубирования зерен зерновой культуры в воздухе, как описывается выше в разделе «Воздушная пауза»;

- инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе при аэрации, как описывается выше в разделе «Инкубирование в водном растворе при аэрации».

Проращивание также может включать в себя следующие стадии или состоять из следующих стадий:

- инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе при аэрации, как описывается выше в разделе «Инкубирование в водном растворе при аэрации»;
- инкубирования зерен зерновой культуры в воздухе, как описывается выше в разделе «Воздушная пауза»;
- инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе при аэрации, как описывается выше в разделе «Инкубирование в водном растворе при аэрации»;
- инкубирования зерен зерновой культуры в воздухе, как описывается выше в разделе «Воздушная пауза».

Проращивание также может включать в себя следующие стадии или состоять из следующих стадий:

- инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе при аэрации, как описывается выше в разделе «Инкубирование в водном растворе при аэрации»;
- инкубирования зерен зерновой культуры в воздухе, как описывается выше в разделе «Воздушная пауза»;
- инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе при аэрации, как описывается выше в разделе «Инкубирование в водном растворе при аэрации»;
- инкубирования зерен зерновой культуры в воздухе, как описывается выше в разделе «Воздушная пауза»;
- инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе при аэрации, как описывается выше в разделе «Инкубирование в водном растворе при аэрации».

Время для каждого инкубирования может варьировать, однако, как правило, вся стадия проращивания, т. е. суммарное время всех инкубирований в водном растворе и всех воздушных пауз не превышает 72 часа, более предпочтительно не превышает 60 часов, еще более предпочтительно не превышает 54 часа. Таким образом, может быть предпочтительно, чтобы всю стадию проращивания выполняли на протяжении диапазона времени от 20 до 72 часов, например, на протяжении диапазона времени от 24 до 60 часов, например, на протяжении диапазона времени от 24 до 48 часов. Следовательно, если проращивание включает в себя несколько стадий инкубирования в водном растворе и/или воздушные паузы, то каждая стадия инкубирования, как правило, является более короткой.

Согласно одному варианту осуществления всю стадию проращивания выполняют в течение по меньшей мере 44 часов, например, в течение по меньшей мере 46 часов, например, в течение по меньшей мере 48 часов. Таким образом, вся стадия проращивания может быть выполнена на протяжении диапазона времени от 44 до 72 часов, например, на протяжении диапазона времени от 46 до 72 часов, например, на протяжении диапазона времени от 48 до 72 часов, например, на протяжении диапазона времени от 46 до 60 часов. Время проращивания, например, может быть определено от инициации проращивания до начала тепловой обработки, как описывается ниже. Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения без стадии тепловой обработки время проращивания, например, может быть определено от инициации проращивания до инициации мелкого измельчения зерен зерновой культуры.

Согласно некоторым вариантам осуществления можно добавлять один или несколько экзогенных ферментов. Например, один или несколько ферментов могут быть добавлены в ходе стадии проращивания, например, как описывается в WO2016/071463.

Согласно одному варианту осуществления проращивание выполняют без подкисления зерен в ходе проращивания. Подкисление представляет собой нанесение кислотных веществ на зерна в ходе проращивания. Указанные кислотные вещества могут представлять собой, например, органические или неорганические кислоты, от сильных до умеренно сильных, такие как серная кислота, азотная кислота, хлористоводородная кислота, перхлорная кислота, фосфорная кислота или одноосновные карбоновые кислоты, или соли этих кислот. В этом отношении компоненты атмосферного воздуха и гиббереллиновую кислоту не считают кислотными веществами.

**Тепловая обработка**

Согласно одному варианту осуществления в соответствии с настоящим изобретением пророщенные зерна зерновой культуры подвергают тепловой обработке после стадии проращивания или в качестве конечной части стадии проращивания. Тепловая обработка обеспечивает повышение содержания гидролитических ферментов в пророщенном зерне зерновой культуры.

В ходе стадий проращивания и тепловой обработки температуру предпочтительно регулируют. Температуру можно регулировать любыми традиционными средствами. В ходе проращивания на стадии инкубирования в водном растворе температуру можно регулировать путем регулирования температуры указанного водного раствора. В ходе проращивания на стадии инкубирования в воздухе температуру можно регулировать путем регулирования температуры воздуха, например, путем применения воздушного

потока с регулируемой температурой. В ходе самой стадии проращивания может выделяться тепло, и, таким образом, может потребоваться регулирование температуры до желаемого уровня путем охлаждения.

В ходе стадии тепловой обработки температуру можно регулировать различными средствами. Например, температуру можно регулировать воздушным потоком или инкубированием в водном растворе с регулируемой температурой. Как упоминается выше, в ходе самого проращивания может выделяться тепло, и, таким образом, даже в ходе стадии тепловой обработки температуру можно регулировать путем охлаждения. Охлаждение может быть выполнено с помощью воздуха или воды.

Согласно одному аспекту настоящего изобретения обработку воздушной паузой при температуре максимум 30°C, предпочтительно при приблизительно 25°C, как описывается выше, выполняют в течение по меньшей мере 20 часов, например, в течение по меньшей мере 22 часов, предпочтительно в течение по меньшей мере 24 часов перед тепловой обработкой.

Согласно одному варианту осуществления продолжительность стадии тепловой обработки составляет по меньшей мере 1 час, например, по меньшей мере 2 часа, например, на протяжении диапазона времени от 1 до 12 часов, предпочтительно на протяжении диапазона времени от 1 до 5 часов, например, в диапазоне от 2 до 4 часов. Тепловая обработка может быть выполнена при температуре в диапазоне от 35 до 55°C, например, в диапазоне от 40 до 50°C.

Предпочтительно, чтобы все стадии проращивания и/или тепловой обработки выполнялись в одном и том же контейнере. Указанный контейнер может представлять собой, в частности, бак, такой как любой из баков, описываемых в настоящем документе ниже в разделе «Устройство».

Стадию тепловой обработки, если таковая имеется, как правило, выполняют таким образом, что содержание воды пророщенных зерен зерновой культуры, которые подвергают указанной тепловой обработки, снижается до менее 20% в любой момент времени между инициацией проращивания и тепловой обработкой. Другими словами, стадия тепловой обработки не является стадией сушки в печи. Согласно некоторым вариантам осуществления пророщенные зерна зерновой культуры характеризовались содержанием воды не менее 25%, еще более предпочтительно не менее 30%, еще более предпочтительно не менее 35% в любой момент времени в ходе стадии тепловой обработки.

Зерна зерновой культуры предпочтительно мелко измельчают, по сути, сразу же после проращивания и/или тепловой обработки. Следовательно, способы в соответствии с

настоящим изобретением предпочтительно не предусматривают стадию сушки между стадией проращивания и/или тепловой обработкой и мелким измельчением зерен зерновой культуры. Таким образом, согласно одному аспекту настоящего изобретения пророщенные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды по меньшей мере 25%, предпочтительно по меньшей мере 30%, еще более предпочтительно по меньшей мере 35% в момент мелкого измельчения указанных зерен зерновой культуры. Также согласно аспекту настоящего изобретения пророщенные зерна зерновой культуры характеризовались содержанием воды не менее 25%, предпочтительно не менее 30%, еще более предпочтительно не менее 35% в любой момент времени от момента завершения стадии проращивания до стадии мелкого измельчения указанных зерен зерновой культуры.

Способы в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно не предусматривают стадию активного охлаждения обработанных нагреванием зерен зерновой культуры перед их мелким измельчением. Таким образом, согласно одному аспекту настоящего изобретения температура пророщенных зерен выше 35°C в любой момент времени между стадией тепловой обработки и стадией мелкого измельчения пророщенных зерен.

**Пророщенные зерна зерновой культуры**

Настоящее изобретение относится к способу, предусматривающему стадию получения пророщенных зерен зерновой культуры и необязательно стадию тепловой обработки указанных пророщенных зерен.

Пророщенные и/или обработанные теплом зерна зерновой культуры предпочтительно характеризуются одной или несколькими активностями гидролитических ферментов, например, обеспечиваемых α-амилазами, β-амилазами, расщепляющими разветвленную структуру крахмала ферментами (такими как конечные декстриназы), α-глюкозидазами и протеазами.

Зачастую начало активности гидролитических ферментов может происходить своевременно и скоординировано, и, таким образом, активность некоторых гидролитических ферментов может использоваться в качестве маркера для других активностей гидролитических ферментов.

Следовательно, предпочтительно, чтобы пророщенные и/или обработанные теплом зерна зерновой культуры характеризовались соответствующим уровнем измеряемой α-амилазной активности. Предпочтительно, пророщенные зерна зерновой культуры характеризуются измеряемой α-амилазной активностью по меньшей мере 40 ед./г,

например, по меньшей мере 50 ед./г зерна зерновой культуры (в пересчете на сухую массу). Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения зерно зерновой культуры может характеризоваться α-амилазной активностью по меньшей мере 50 ед./г, например, по меньшей мере 60 ед./г зерен зерновой культуры (в пересчете на сухую массу).

α-Амилазную активность предпочтительно определяют согласно стандартным способам, например, с использованием набора Ceralpha (K-CERA) от Megazyme, Ирландия. В частности, α-амилазная активность может быть определена, как описывается в примере 2 ниже.

Также может быть предпочтительно, чтобы пророщенные зерна зерновой культуры характеризовались соответствующим уровнем измеряемой β-амилазной активности. Предпочтительно, пророщенные зерна зерновой культуры характеризуются измеряемой β-амилазной активностью по меньшей мере 5 ед./г зерна зерновой культуры (в пересчете на сухую массу). Таким образом, предпочтительно пророщенные зерна зерновой культуры могут характеризоваться измеряемой β-амилазной активностью по меньшей мере 10 ед./г, например, по меньшей мере 15 ед./г, зерен зерновой культуры (в пересчете на сухую массу).

Предпочтительно, β-амилазную активность определяют согласно стандартным способам, например, с использованием набора Betamyl (K-BETA3) от Megazyme, Ирландия. В частности, β-амилазная активность может быть определена, как описывается в примере 2 ниже.

Также предпочтительно, чтобы пророщенные и/или обработанные теплом зерна зерновой культуры характеризовались соответствующим уровнем активности конечной декстриназы. Предпочтительно, пророщенные зерна зерновой культуры характеризуются активностью конечной декстриназы по меньшей мере 5 миллиед./г зерна зерновой культуры (в пересчете на сухую массу). Таким образом, предпочтительно, пророщенные зерна зерновой культуры могут характеризоваться активностью конечной декстриназы по меньшей мере 9 миллиед./г зерен зерновой культуры (в пересчете на сухую массу). Предпочтительно, активность конечной декстриназы определяют согласно стандартным способам, например, с использованием набора Limit Dextrizyme T-LDZ1000 от Megazyme, Ирландия. В частности, активность конечной декстриназы может быть определена, как описывается в примере 2 ниже.

Интересно то, что пророщенные и/или обработанные теплом зерна зерновой культуры в соответствии с настоящим изобретением имеют значительно меньше проростков по сравнению с традиционным зеленым солодом. Таким образом,

пророщенные зерна зерновой культуры в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно содержат максимум 4 г проростков на 100 г пророщенного ячменя, предпочтительно максимум 3 г проростков на 100 г пророщенного ячменя, еще более предпочтительно максимум 2 г проростков на 100 г пророщенного ячменя, например, максимум 1,1 г проростков на 100 г пророщенного ячменя, при этом как масса проростков, так и масса пророщенного ячменя представлена как сухая масса. Массу проростков предпочтительно определяют, как описывается в примере 6 ниже. Таким образом, согласно одному варианту осуществления способ в соответствии с настоящим изобретением не предусматривает стадию удаления проростков.

Нитрозамины (NDMA) представляют собой химические соединения с химической структурой $R^1N(-R^2)-N=O$, то есть нитрозогруппу, связанную с амином. Большинство нитрозаминов являются канцерогенными. Несмотря на то, что содержание нитрозаминов в современных солодах низкое, пророщенные зерновки ячменя в соответствии с настоящим изобретением, тем не менее, все же характеризуются значительно пониженным содержанием NDMA по сравнению с традиционным солодом. Согласно одному варианту осуществления пророщенные зерновки ячменя в соответствии с настоящим изобретением включают в себя максимум 0,15 мкг/кг NDMA, предпочтительно максимум 0,12 мкг/кг NDMA, например, максимум 0,10 мкг/кг NDMA.

**Водный раствор**

Водный раствор можно считать раствором, даже несмотря на то, что смесь водного раствора и зерен зерновой культуры может рассматриваться как суспензия. Часто водный раствор представляет собой воду, такую как водопроводная вода. Одно или несколько дополнительных средств можно добавлять в указанную воду, и, таким образом, водный раствор может быть водой, такой как водопроводная вода, содержащей одно или несколько дополнительных средств. Указанные дополнительные средства могут содержаться в водном растворе с самого начала, или их можно добавлять в ходе инкубирования.

Указанные дополнительные средства могут, например, быть соединениями, способными ускорять проращивание зерен зерновой культуры. Таким образом, водный раствор может содержать гиббереллиновую кислоту (GA), например, водный раствор может содержать GA при концентрации по меньшей мере 100 нМ, например, при концентрации по меньшей мере 1000 нМ, например, при концентрации в диапазоне от 100 до 100000 нМ, например, при концентрации в диапазоне от 500 до 2000 нМ. Указанная GA может находиться в водном растворе с самого начала инкубирования, или ее можно

добавлять в ходе инкубирования. Указанная GA может быть любой GA, например, $GA_3$ или $GA_7$. Согласно одному варианту осуществления указанная GA представляет собой $GA_3$.

Дополнительное средство может также представлять собой противовспенивающее средство. Указанное противовспенивающее средство может, например, представлять собой любое противовспенивающее средство пищевого качества, например, Foamzol FCD511 (AB Vickers, Великобритания).

**Устройство**

Способы в соответствии с настоящим изобретением могут быть выполнены с использованием одного или нескольких устройств, подходящих для выполнения способов.

Например, стадия инкубирования зерен зерновой культуры в водном растворе может быть выполнена в контейнере, оснащенном одним или несколькими воздушными насосами. Контейнер может представлять собой любой контейнер, в котором зерна зерновой культуры можно инкубировать в водном растворе. Согласно некоторым вариантам осуществления контейнер может представлять собой бак, например, бак, описанный ниже.

Один пример устройства, применимого для инкубирования зерен зерновой культуры, представлен на фиг. 2. Устройство содержит бак (2), который должен иметь достаточный объем для вмещения зерен зерновой культуры и водного раствора. Бак, показанный на фиг. 2, является цилиндрическим, но бак, который можно использовать с настоящим изобретением, может иметь любую подходящую форму, например, он может быть цилиндрическим баком, например, цилиндрическим баком с конической нижней частью. Бак может быть изготовлен из любого подходящего материала, например, из пластмассы (такой как плексиглас) или из металла (например, нержавеющей стали или меди).

Бак содержит по меньшей мере одно впускное отверстие (1) для зерна зерновой культуры, которое можно использовать для добавления зерен зерновой культуры в бак. Впускное отверстие можно также использовать для добавления других соединений в бак, например, впускное отверстие можно использовать для добавления водного раствора, например, воды. Впускное отверстие может располагаться в любом пригодном положении в баке, и согласно некоторым вариантам осуществления впускное отверстие расположено в верхней части бака, например, сверху бака. Впускное отверстие должно иметь достаточный размер для обеспечения добавления зерен зерновой культуры. Даже если не

требуется, бак может содержать дополнительные впускные отверстия, помимо впускного отверстия для зерен зерновой культуры.

Бак может необязательно содержать решетку или сетку (3), расположенную, по сути, горизонтально в баке. Если имеется, такая решетка или сетка обычно располагается в нижней 1/3, например, в нижней 1/5, бака. Решетка или сетка предпочтительно содержит только отверстия, которые меньше зерен зерновой культуры. Решетка или сетка может быть изготовлена из любого подходящего материала, такого как пластмасса или металл, и может, например, представлять собой металлическую сетку. Таким образом, решетку или сетку можно использовать для отделения зерен зерновой культуры от нижней части бака. Однако бак зачастую не содержит сетку. В частности, если бак содержит выпускное отверстие для зерен зерновой культуры в днище или вблизи днища, то указанный бак, как правило, не содержит решетку или сетку.

Кроме того, бак содержит одно или несколько впускных отверстий для газа (4). Указанные впускные отверстия могут представлять собой любое впускное отверстие, через которое газ, включающий в себя $O_2$, может проходить в бак. Впускные отверстия для газа могут иметь форму, которая позволяет газу входить в водный раствор с высокой скоростью, обеспечивая диффузию газа через водный раствор. Таким образом, например, впускные отверстия для газа могут представлять собой форсунки, жиклеры, диффузионные камни или диффузоры из спеченной нержавеющей стали. Согласно одному варианту осуществления впускные отверстия для газа представляют собой диффузоры из спеченной нержавеющей стали. Впускные отверстия для газа, как правило, соединены с насосом (5), который закачивает газ в бак через указанные впускные отверстия. Насос может представлять собой любой насос, способный закачивать газ, например, воздух через впускные отверстия для газа. Предпочтительно, чтобы бак содержал множество впускных отверстий для газа, например, по меньшей мере 2, например, по меньшей мере 3, например, в диапазоне от 3 до 20. Впускные отверстия для газа могут располагаться в любом месте в баке, но обычно они располагаются в нижней 1/3, например, в нижней 1/5, бака. Это позволяет газу поступать в водный раствор снизу и диффундировать вверх через водный раствор. Избыток газа может покидать бак через любое отверстие в баке, например, через впускное отверстие для добавления зерновой культуры. Согласно одному варианту осуществления может быть предпочтительно, чтобы указанные впускные отверстия (3) располагались непосредственно на боковых стенках бака (2), предпочтительно в нижней части боковых стенок, например, как показано на фиг. 1.

Пример устройства, применимого для проведения нескольких стадий способов в соответствии с настоящим изобретением, показан на фиг. 1. Устройство содержит впускное отверстие для зерен зерновой культуры (1), бак (2), впускной(ые) отверстие(ия) для газа (3) и насос (4), которые могут представлять собой любые из впускных отверстий для зерен зерновой культуры, баков, впускных отверстий для газа и насосов, описанных выше в настоящем документе в отношении фиг. 2. Бак (2) может содержать выпускное отверстие для зерен зерновой культуры (5), расположенное в нижней 1/3, например, нижней 1/5, бака, например, расположенное на днище бака. Указанное выпускное отверстие можно использовать как для удаления зерен зерновой культуры, так и для удаления других компонентов, находящихся в баке, например, водного раствора. Указанное выпускное отверстие может быть соединено с насосом для зерна (6), например, посредством трубопровода. Указанный насос для зерна (6) может быть любым насосом, способным закачивать зерна из бака (2) в оборудование (7) для мелкого измельчения зерен зерновой культуры и необязательно также в емкость для затирания (9).

Устройство содержит оборудование (7) для мелкого измельчения зерен зерновой культуры. Указанное оборудование может представлять собой любое оборудование, способное мелко измельчать зерна зерновой культуры с содержанием воды выше 20%, например, выше 35%. Оборудование может, в частности, представлять собой дробилку или мельницу, например, мельницу для мокрого измельчения. Оборудование (7) может быть соединено с баком (2) и с емкостью (9) при помощи трубопровода(ов). Движение зерна из бака (2) в оборудование (7) и далее в емкость (9) можно обеспечивать насосом (6).

Устройство может также содержать емкость (9). Емкость (9) может представлять собой любую емкость, которая может содержать водный экстракт и которая может выдерживать температуры, используемые для затирания, например, температуры до 90°C, например, до 85°C, например, до 80°C. Таким образом, емкость может быть изготовлена из любого материала, выдерживающего такие температуры, например, из металла, такого как нержавеющая стать или медь Емкость может иметь любую подходящую форму, например, она может быть, по сути, цилиндрической. Емкость может быть связана с оборудованием для контроля температуры. Емкость можно использовать для получения водного экстракта мелко измельченных зерен зерновой культуры посредством процесса, включающего в себя инкубирование при одной или нескольких заранее определенных температурах, как описано в настоящем документе в разделе «Получение водного экстракта». Указанное оборудование для контроля температуры способно регулировать температуру жидкости в емкости, в том числе способно нагревать жидкость в емкости до

заранее определенной температуры, например, до любой из температур, описанной в настоящем документе в разделе «Получение водного экстракта». Емкость (9) может также содержать оборудование для перемешивания или вращения любой жидкости, содержащейся в указанной емкости. В частности, емкость (9) может представлять собой емкость для затирания. Емкости для затирания хорошо известны в уровне техники, и емкость (9) может представлять собой любую традиционную емкость для затирания.

Емкость (9), как правило, содержит впускное отверстие (8), через которое мелко измельченные пророщенные зерна зерновой культуры могут поступать в емкость. Указанное впускное отверстие (8) обычно расположено в верхней половине емкости, например, в верхней 1/3, например, в верхней 1/5, емкости, например, сверху емкости. Мелко измельченные зерна зерновой культуры можно вводить через трубопровод из оборудования (7) для мелкого измельчения зерен зерновой культуры во впускное отверстие (8) емкости (9).

Как правило, емкость (9) также содержит выпускное отверстие (10), через которое водный экстракт может выходить из емкости после получения водного экстракта (см. подробности в отношении водного экстракта ниже в настоящем документе в разделах «Водный экстракт» и «Получение водного экстракта»). Выпускное отверстие обычно расположено в нижней половине, например, в нижней 1/3, например, в нижней 1/5, емкости, например, на днище емкости.

**Мелкое измельчение пророщенных зерен зерновой культуры**

Способы в соответствии с настоящим изобретением предусматривают стадию мелкого измельчения зерен зерновой культуры, которые шелушили, и/или проращивали, и/или нагревали согласно способам, определяемым в настоящем документе.

На момент мелкого измельчения указанных зерен зерновой культуры они предпочтительно все еще характеризуются высоким содержанием воды, предпочтительно указанные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды по меньшей мере 20%, более предпочтительно по меньшей мере 25%, еще более предпочтительно по меньшей мере 30%, еще более предпочтительно по меньшей мере 35%. Например, пророщенные зерна зерновой культуры могут быть перемещены непосредственно из проращивания и/или тепловой обработки в оборудование для мелкого измельчения зерен зерновой культуры. Следовательно, пророщенные зерна зерновой культуры могут характеризоваться тем же содержанием воды на момент мелкого измельчения, что и зерна зерновой культуры сразу же после проращивания и/или тепловой обработки зерен зерновой культуры, например, содержанием воды, описываемым в настоящем документе

выше в разделе «Проращивание». В частности, способы, как правило, не предусматривают стадию сушки пророщенных зерен зерновой культуры. Таким образом, способы предпочтительно не предусматривают стадию сушки в печи пророщенных зерен зерновой культуры. Как указано выше, сушка в печи дает снижение содержания воды до уровня приблизительно 4,5-5%. Предпочтительно, пророщенные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 20%, предпочтительно не менее 25%, еще более предпочтительно не менее 30%, еще более предпочтительно не менее 35% в любой момент времени после проращивания и/или тепловой обработки и перед мелким измельчением указанных зерен зерновой культуры.

Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения пророщенные зерна зерновой культуры подвергают тепловой обработке после стадии проращивания. Способы в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно не предусматривают стадию активного охлаждения обработанных теплом зерен зерновой культуры перед их мелким измельчением. Таким образом, согласно одному аспекту настоящего изобретения температура пророщенных зерен составляет выше 35°C в любой момент между стадией тепловой обработки и стадией мелкого измельчения пророщенных зерен.

Пророщенные зерна зерновой культуры могут быть мелко измельчены с использованием любого оборудования, подходящего для мелкого измельчения зерен зерновой культуры, характеризующихся содержанием воды более 20%, например, более 25%, например, более 30%, например, более 35%. Например, пророщенные зерна зерновой культуры могут быть подвергнуты размалыванию, например, мокрому размалыванию. Применимые мельницы для размалывания пророщенных зерен зерновой культуры включают в себя мельницы, доступные от Millstar, США. Пророщенные зерна зерновой культуры также могут быть подвергнуты дроблению.

Зерна зерновой культуры, как правило, мелко измельчают до такой степени, чтобы можно было приготовить водный экстракт сбраживаемых сахаров зерен зерновой культуры. Таким образом, зерна зерновой культуры достаточно измельчают, так что 7 л водного экстракта из 1 кг указанных мелко измельченных зерен зерновой культуры характеризуется удельной плотностью по меньшей мере 8 Плато.

Согласно вариантам осуществления настоящего изобретения, в которых водный экстракт готовят из пророщенных зерен зерновой культуры и одной или нескольких добавок, указанные добавки также могут быть мелко измельчены. В частности, это может быть в случае, если указанные добавки включают в себя непророщенные зерна зерновой культуры. Указанные добавки могут быть мелко измельчены, например, размолоты в

отдельных процессах. Однако настоящее изобретение также предусматривает, что добавки мелко измельчают вместе с пророщенными зернами зерновой культуры. Подобным образом, если водный экстракт готовят из пророщенных зерен зерновой культуры и высушенного в печи солода, то указанный высушенный в печи солод может быть мелко измельчен, например, размолот в отдельных процессах. Однако настоящее изобретение также предусматривает, что высушенный в печи солод мелко измельчают вместе с пророщенными зернами зерновой культуры.

**Получение водного экстракта**

Способы в соответствии с настоящим изобретением также предусматривают стадию получения водного экстракта мелко измельченных пророщенных зерен зерновой культуры. Указанная стадия, например, может представлять собой стадию затирания.

Упомянутый выше водный экстракт может быть, как правило, получен путем инкубирования мелко измельченных зерен зерновой культуры в воде или в водном растворе. Водный раствор для получения водного экстракта, как правило, является водным раствором, который отличается от водного раствора, используемого для инкубирования зерен зерновой культуры в ходе проращивания.

С целью отличия водный раствор для получения водного экстракта также можно называть «раствором для затирания». Раствор для затирания может быть любым водным раствором, но он обычно состоит из воды, такой как водопроводная вода, в которую можно добавлять одно или несколько дополнительных средств. Для различения между дополнительными средствами, добавляемыми в ходе проращивания, эти дополнительные средства можно называть «дополнительными средствами для затирания». Таким образом, раствор для затирания может состоять из воды (например, водопроводной воды), в которую добавляют одно или несколько дополнительных средств для затирания. Средства для затирания могут находиться в растворе для затирания с самого начала, или их можно добавить в ходе процесса получения водного экстракта.

Указанные дополнительные средства для затирания могут быть ферментами. Таким образом, раствор для затирания может включать в себя один или несколько ферментов. Указанные ферменты можно добавлять в раствор для затирания с самого начала или потом в ходе процесса.

Указанные ферменты, например, могут представлять собой один или несколько гидролитических ферментов. Подходящие ферменты включают в себя липазы, разлагающие крахмал ферменты (например, амилазы), глюканазы [предпочтительно (1-4)- и/или (1,3; 1,4)-β-глюканазы], и/или ксиланазы (такое как арабиноксиланазы), и/или

протеазы, или смеси ферментов, включающие в себя один или несколько из упомянутых выше ферментов, например, Cereflo, Ultraflo или Ondea Pro (Novozymes). Например, раствор для затирания может включать в себя один или несколько гидролитических ферментов, при этом по меньшей мере один гидролитический фермент выбран из группы, состоящей из α-амилазы, β-амилазы, конечной декстриназы, пуллуланазы, β-глюканазы, ксиланазы, глюкоамилазы и протеазы.

Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения раствор для затирания включает в себя один или несколько из следующих ферментов:

– β-глюканаза, такая как эндо-(1,3; 1,4)-β-глюканаза или эндо-1,4-β-глюканаза;

– ксиланаза, такая как эндо- или экзо-1,4-ксиланаза, арабинофуранозидаза или эстераза феруловой кислоты;

– α-амилаза;

– пуллуланаза или конечная декстриназа;

– глюкоамилаза.

Решения о том, нужно ли добавлять ферменты в раствор для затирания или нет, и о том, какие ферменты добавлять, могут зависеть от используемого зерна зерновой культуры. Таким образом, согласно вариантам осуществления настоящего изобретения, если зерновая культура представляет собой растение ячменя с низким содержанием β-глюкана (например, как описано в настоящем документе ниже в разделе «Ячмень»), то небольшое количество β-глюканазы может быть добавлено в раствор для затирания или не добавлено вообще.

Согласно одному варианту осуществления предпочтительно не добавлять экзогенную протеазу в ходе затирания. Добавление протеазы может быть менее предпочтительным, поскольку протеазы могут влиять на ферментативную активность. Согласно одному варианту осуществления предпочтительно не добавлять экзогенную липазу при затирании.

Согласно одному варианту осуществления предпочтительно использовать максимум 700 ед., предпочтительно максимум 350 ед., экзогенной глюкоамилазы на г пророщенных зерен зерновых культур (в пересчете на сухое вещество) в ходе получения водного экстракта.

Согласно одному варианту осуществления предпочтительно использовать максимум 400 AGU, предпочтительно максимум 200 AGU экзогенной глюкоамилазы на кг пророщенных зерен зерновой культуры (в пересчете на сухое вещество) в ходе получения

водного экстракта. Определение AGU можно выполнять, как описано в патенте США № US7060468.

Согласно другому варианту осуществления предпочтительно, чтобы объединенные экзогенные глюкоамилаза и α-амилаза, используемые в ходе получения водного экстракта, не превышали 700 ед., предпочтительно не превышали 350 ед. на г пророщенных зерен зерновой культуры (в пересчете на сухое вещество). Объединенную активность глюкоамилазы и α-амилазы можно, например, определять с использованием K-CERA 01/12 (протокол и набор, доступные от Megazyme, Ирландия).

Согласно одному варианту осуществления предпочтительно использовать максимум 20 ед. экзогенной пуллуланазы или конечной декстриназы на кг пророщенных зерен зерновой культуры (в пересчете на сухое вещество) в ходе получения водного экстракта.

Согласно одному варианту осуществления предпочтительно использовать максимум 100 PUN пуллуланазы на кг пророщенных зерен зерновой культуры (в пересчете на сухое вещество) в ходе получению водного экстракта. Определение PUN может быть выполнено, как описывается в патенте США № US7060468.

Указанные дополнительные средства для затирания могут также быть добавками, например, непророщенными зернами зерновой культуры, сиропами или сахарами. Если добавляют добавки, они могут также быть мелко измельченными, например, путем размалывания или дробления. Если добавка представляет собой зерно зерновой культуры, например, зерно зерновой культуры, которое не подвергали проращиванию, тогда оно обычно может быть мелко измельченным или размолотым. Если добавка представляет собой сиропы, сахара или подобное, то они будут обычно не размолоты. Добавку, такую как сахара или сиропы, можно добавлять в раствор для затирания в любое время в процессе; однако такие добавки можно также добавлять в водный экстракт или позднее в процессе получения напитка, как описывается ниже. Как правило, добавки добавляют в меньших количествах, чем пророщенные зерна зерновой культуры. Таким образом, по меньшей мере 50%, предпочтительно по меньшей мере 70%, например, по меньшей мере 90%, углеводов водного экстракта получают из пророщенных зерен зерновой культуры, тогда как добавки предпочтительно только составляют незначительную часть углеводов. Если добавка является непророщенным зерном зерновой культуры, то предпочтительно, чтобы пророщенные зерна зерновой культуры составляли по меньшей мере 50% (масс./масс.), предпочтительно по меньшей мере 70% (масс./масс.), более предпочтительно по меньшей мере 90% (масс./масс.) всех зерен зерновой культуры, как определено в пересчете на сухую массу.

Дополнительные средства для затирания могут также представлять собой высушенный в печи солод. Если добавляют высушенный в печи солод, то он может также быть мелко измельченным, например, путем размалывания или дробления. Как правило, высушенный в печи солод добавляют в меньших количествах, чем пророщенные зерна зерновой культуры. Таким образом, пророщенные зерна зерновой культуры составляют по меньшей мере 80% (масс./масс.), предпочтительно по меньшей мере 90% (масс./масс.), более предпочтительно по меньшей мере 95% (масс./масс.) всех зерен зерновой культуры и солода, как определено в пересчете на сухую массу. Согласно предпочтительным вариантам осуществления высушенный в печи солод не добавляют.

Указанные дополнительные средства для затирания, предпочтительно пищевого качества, также могут представлять собой соль, например, $CaCl_2$.

Указанные дополнительные средства для затирания также могут представлять собой кислоту, предпочтительно кислоту пищевого качества, например, $H_3PO_4$.

Водный экстракт обычно получают инкубацией мелко измельченных пророщенных зерен зерновой культуры в растворе для затирания при одной или нескольких заранее определенных температурах. Указанная заранее определенная температура может также называться в настоящем документе «температурой затирания». Указанные температуры затирания могут, например, быть обычными температурами, используемыми при затирании.

Температура затирания, как правило, или поддерживается постоянной (изотермическое затирание), или постепенно повышается, например, повышается постепенным образом. В любом случае растворимые вещества в мелко измельченных пророщенных зернах зерновой культуры высвобождаются в указанный раствор для затирания, образуя при этом водный экстракт.

Температура(ы) затирания обычно представляет(ют) собой температуру(ы) в диапазоне от 30 до 90°C, например, в диапазоне от 40 до 85°C, например, в диапазоне от 50 до 85°C. Температуры затирания можно выбирать согласно используемому типу зерновой культуры. Следовательно, согласно вариантам осуществления настоящего изобретения, в которых зерна зерновой культуры представляют собой ячмень с низким содержанием липоксигеназной (LOX) активности и/или метилметионинтрансферазной (MMT) активности или без таковых (см. подробности ниже в настоящем документе в разделе «Ячмень»), температура затирания может быть ниже, например, находиться в диапазоне от 35 до 69°C.

Инкубирование в растворе для затирания может быть выполнено в течение любого подходящего количества времени. Время для инкубирования в растворе для затирания в

емкости для затирания может, например, находиться в диапазоне от 60 до 300 минут, например, в диапазоне от 60 до 240 минут, например, в диапазоне от 90 до 300 минут. например, в диапазоне от 90 до 240 минут, например, в диапазоне от 90 до 270 минут. Например, указанное время для инкубирования в растворе для затирания может быть любым временем, используемым при традиционном затирании. Одним неограничивающим примером подходящего затирания является:

(1) затирание при температуре в диапазоне от 50 до 60°C, например, приблизительно 55°C, в диапазоне от 10 до 30 минут, например, приблизительно 15 минут;

(2) нагревание до температуры в диапазоне от 60 до 70°C, предпочтительно в диапазоне от 60 до 65°C, например, приблизительно 62°C, в диапазоне от 30 до 90 минут, например, приблизительно 60 минут;

(3) нагревание до температуры в диапазоне от 70 до 75°C, например, приблизительно 72°C, в диапазоне от 5 до 30 минут, например, приблизительно 15 минут;

(4) нагревание до температуры в диапазоне от 75 от 80°C, предпочтительно в диапазоне от 75 до 78°C, например, приблизительно 78°C, в диапазоне от 5 до 15 минут, например, приблизительно 10 минут.

После инкубирования в растворе для затирания в емкости для затирания мелко измельченные пророщенные зерна зерновой культуры в растворе для затирания можно переносить в другой контейнер, например, фильтрационный чан, и инкубировать в течение дополнительного времени при повышенной температуре, например, в диапазоне от 70 до 78°C на протяжении диапазона времени от 30 до 120 минут.

Таким образом, инкубирование в растворе для затирания в дополнение к упомянутым выше стадиям может также предусматривать стадию (5):

(5) нагревания до температуры в диапазоне от 70 до 78°C, предпочтительно в диапазоне от 75 до 78°C, например, приблизительно 78°C, в диапазоне от 30 до 120 минут, например приблизительно 60 минут.

Один неограничивающий пример применимых температур затирания и времени показан в настоящем документе на фиг. 10. Инкубирование на протяжении первых приблизительно 120 минут, например, может быть выполнено в емкости для затирания, тогда как последующее инкубирование, например, может быть выполнено в другом контейнере. Другие неограничивающие примеры можно найти в литературе по пивоварению, например, у Briggs et al. (выше) и Hough et al. (выше).

После инкубирования в растворе для затирания водный экстракт, как правило, можно разделять, например, посредством фильтрации, на водный экстракт и остаточные

нерастворившиеся твердые частицы, последние также называют «отработанным зерном». Фильтрование можно, например, проводить в фильтрационном чане. В качестве альтернативы, фильтрование может представлять собой фильтрование через заторный фильтр. Водный экстракт, полученный таким образом, можно также называть «первым суслом».

Дополнительная жидкость, такая как вода, может быть добавлена в отработанные зерна в ходе процесса, также называемого промывание. После промывания и фильтрации может быть получено «второе сусло». Дополнительные сусла могут быть получены путем повторения процедуры.

Таким образом, водный экстракт может представлять собой сусло, например, первое сусло, второе сусло, дополнительное сусло или их комбинацию.

**Водный экстракт**

Водный экстракт, полученный способами в соответствии с настоящим изобретением, может обладать рядом полезных свойств, включающих в себя без ограничения свойства, описываемые в данном разделе.

Как упоминается выше, водный экстракт может быть подвергнут стадии фильтрация. Следовательно, может быть предпочтительно, чтобы сусло обладало хорошей фильтруемостью. Например, может быть технически сложным фильтровать высоковязкую жидкость, причина, по которой может быть предпочтительно, чтобы водный экстракт имел низкую вязкость.

Фильтруемость можно определять рядом путей. Согласно одному варианту осуществления фильтруемость определяют как количество жидкости, полученное после фильтрации через фильтровальную воронку, снабженную фильтровальной бумагой, в течение 1 часа. Предпочтительно, водный экстракт имеет фильтруемость по меньшей мере 250 мл, когда 400 мл раствора для затирания, содержащего 100 г мелко измельченных зерен зерновой культуры, добавляют в указанную фильтровальную воронку. Фильтруемость можно также определять как процент объема жидкости, полученной после фильтрации в течение 60 минут, как описывается выше, по сравнению с объемом жидкости водного экстракта, добавленного в указанную воронку. Таким образом, фильтруемость может составлять по меньшей мере 50%, например, по меньшей мере 60% (объем./объем.). В частности, фильтруемость можно определять, как описывается в настоящем документе ниже в примере 3.

Фильтруемость зачастую может зависеть от содержания β-глюкана. Следовательно, может быть предпочтительно, чтобы содержание β-глюкана не было слишком высоким.

Например, водный экстракт может включать в себя максимум 200 мг/л, предпочтительно максимум 150 мг/л β-глюкана.

Также предпочтительно, чтобы водный экстракт характеризовался соответствующим содержанием сбраживаемых сахаров. В частности, может быть предпочтительно, чтобы водный экстракт включал в себя по меньшей мере 10 г, например, по меньшей мере 15 г, мальтозы на л. Например, может быть предпочтительно, чтобы водный экстракт включал в себя по меньшей мере 1 г/л на Плато мальтозы. Также может быть предпочтительно, чтобы указанной водный экстракт включал в себя по меньшей мере 1 г, например, по меньшей мере 2 г, глюкозы на л.

Как правило, желательно, чтобы сусло включало в себя свободный аминный азот (FAN) с содержанием, которое достаточно высоко для достижения хорошей жизнеспособности дрожжей, при этом очень высокое содержание может быть нежелательным. Следовательно, может быть предпочтительно, чтобы водный экстракт включал в себя FAN в диапазоне от 150 до 400 мг/л, например, в диапазоне от 150 до 300 мг/л, например, в диапазоне от 150 до 250 мг/л.

Как правило, желательно, чтобы сусло характеризовалось высоким содержанием аминокислоты валин, поскольку это может снизить вероятность нежелательного образования диацетила. Следовательно, может быть предпочтительно, чтобы водный экстракт включал в себя по меньшей мере 55 мг/л, например, по меньшей мере 60 мг/л, валина. Согласно одному варианту осуществления водный экстракт включает в себя по меньшей мере 65 мг/л валина.

Упомянутое выше содержание сахаров, FAN и аминокислот является предпочтительным содержанием в водном экстракте перед каким-либо сбраживанием.

**Способ получения водного экстракта зерна обрушенной зерновой культуры**

Согласно одному варианту осуществления настоящее изобретение относится к способам получения водного экстракта зерновой культуры, при этом указанный способ предусматривает стадии:

a. обеспечения зерен зерновой культуры, при этом зерновая культура представляет собой обрушенную зерновую культуру;

b. обработки указанных зерен зерновой культуры с удалением оболочки, при этом указанная обработка приводит к потере по меньшей мере 2% общей массы указанных зерен зерновой культуры, например, к потере в диапазоне от 2 до 7% общей массы указанных зерен зерновой культуры, например, к потере в диапазоне от 3 до 6% общей массы указанных зерен зерновой культуры;

c. воздействия на зерна зерновой культуры стадии проращивания с получением тем самым пророщенных зерен, при этом указанная стадия проращивания может включать в себя

i. инкубирование указанных зерен в водном растворе на протяжении диапазона времени от 16 от 40 часов, например, в диапазоне от 20 до 30 часов, при этом по меньшей мере 2 л $O_2$ на кг сухой массы зерен зерновой культуры пропускают через указанный водный раствор в час и при этом указанные зерна погружают в указанный водный раствор в ходе указанного инкубирования;

ii. удаление избытка водного раствора; и

iii. инкубирование влажных зерен на воздухе на протяжении диапазона времени от 20 до 50 часов, например, в диапазоне от 20 до 30 часов, при температуре в диапазоне от 15 до 30°C в потоке по меньшей мере 2 л $O_2$ на кг сухой массы зерен зерновой культуры в час;

d. мелкого измельчения пророщенных зерен, при этом указанные пророщенные зерна характеризуются содержанием воды по меньшей мере 20%; при условии, что указанные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 20% в любой момент времени между стадиями c) и d), с получением тем самым размолотых пророщенных зерен; и

e. получения водного экстракта указанных размолотых пророщенных зерен,

с получением тем самым водного экстракта зерновой культуры.

Следует учитывать, что выражение «указанные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 20% в любой момент времени между стадиями c) и d)» предусматривает, например, что указанные зерна зерновой культуры могут характеризоваться содержанием воды выше 20% в любой момент времени в ходе стадий c) и d), в любой момент времени от завершения стадии c) до завершения стадии d) или в любой момент времени от завершения стадии c) до инициации стадии d).

На момент мелкого измельчения указанных зерен зерновой культуры они предпочтительно все еще характеризуются высоким содержанием воды, предпочтительно указанные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды по меньшей мере 20%, более предпочтительно по меньшей мере 25%, еще более предпочтительно по меньшей мере 30%, еще более предпочтительно по меньшей мере 35%. Например, пророщенные зерна зерновой культуры могут быть перемещены непосредственно от проращивания и/или тепловой обработки в оборудование для мелкого измельчения зерен зерновой культуры. Следовательно, пророщенные зерна зерновой культуры могут характеризоваться тем же содержанием воды на момент мелкого измельчения, что и зерна

зерновой культуры сразу же после проращивания и/или тепловой обработки зерен зерновой культуры, например, содержанием воды, описываемым в настоящем документе выше в разделе «Проращивание». В частности, способы, как правило, не предусматривают стадию сушки пророщенных зерен зерновой культуры. Таким образом, способы предпочтительно не предусматривают стадию сушки в печи пророщенных зерен зерновой культуры. Как указано выше, сушка в печи приводит к снижению содержания воды до содержания приблизительно 4,5-5%. Предпочтительно, пророщенные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 20%, предпочтительно не менее 25%, еще более предпочтительно не менее 30%, еще более предпочтительно не менее 35% в любой момент времени после проращивания и/или тепловой обработки и перед мелким измельчением указанных зерен зерновой культуры.

Способ может предусматривать стадию тепловой обработки, как описывается в разделе «Тепловая обработка» в настоящем документе выше.

Количество $O_2$, пропускаемого через зерна зерновой культуры в водном растворе или в воздухе, может представлять собой любое из количеств $O_2$, описываемых в настоящем документе выше в разделе «Проращивание». Согласно одному варианту осуществления атмосферный воздух в диапазоне от 85 до 95 л на кг сухой массы зерен зерновой культуры пропускают через указанный водный раствор в час в ходе стадии i. Согласно одному варианту осуществления инкубирование в воздухе на стадии iii. выполняют в потоке атмосферного воздуха в диапазоне от 85 до 95 л на кг сухой массы зерен зерновой культуры.

Стадия мелкого измельчения пророщенных зерен может быть такой, как описывается в разделе «Мелкое измельчение пророщенных зерен зерновой культуры» в настоящем документе выше.

Стадия получения водного экстракта зерновой культуры может быть такой, как описывается в разделе «Водный экстракт» в настоящем документе выше.

**Получения напитков**

Согласно некоторым вариантам осуществления способы в соответствии с настоящим изобретением также предусматривают стадию переработки водного экстракта, полученного способами в соответствии с настоящим изобретением, в напиток. Любой из упомянутых выше способов, описываемых в настоящем документе, может быть использован для получения водного экстракта зерновой культуры, который затем далее перерабатывают в напиток.

Водный экстракт можно кипятить с хмелем или без такового, при этом впоследствии его можно называть кипяченым суслом.

Первое, второе и последующие сусла могут быть объединены и после этого подвергнуты нагреванию или кипячению. Водный экстракт можно нагревать или кипятить в течение любого подходящего количества времени, например, в диапазоне от 60 минут до 120 минут. В ходе нагревания или кипячения объем водного экстракта может быть снижен из-за выпаривания. Может быть предпочтительно, чтобы объем водного экстракта снижался на менее чем 8%, предпочтительно на менее чем 5%. Это может существенно снизить потребление энергии.

Напиток может быть получен путем сбраживания водного экстракта, например, путем сбраживания сусла. Таким образом, напиток может быть получен путем сбраживания водного экстракта с помощью дрожжей.

Согласно одному варианту осуществления напиток может представлять собой алкогольный напиток, такой как пиво. Согласно другим вариантам осуществления напиток может представлять собой неалкогольные напиток на основе пророщенных зерен зерновой культуры. Неалкогольный напиток, например, может представлять собой неалкогольное пиво или другие виды неалкогольных напитков, такие как Maltina.

Согласно одному предпочтительному варианту осуществления напиток представляет собой пиво, например, пиво может быть пивом лагер или элем. Таким образом, пиво, например, может быть выбрано из группы, состоящей из Altbier, Amber ale, Barley wine, Berliner weisse, Bière de Garde, Bitter, Blonde Ale, Bock, Brown ale, California Common, Cream Ale, Dortmunder Export, Doppelbock, Dunkel, Dunkelweizen, Eisbock, Fruit lambic, Golden Ale, Gose, Gueuze, Hefeweizen, Helles, India Pale ale, Kölsch, Lambic, Light ale, Maibock, Malt liquor, Mild, Märzenbier, Old ale, Oud bruin, Pale ale, Pilsener, Porter, Red ale, Roggenbier, Saison, Scotch ale, Steam beer, Stout, Schwarzbier, лагер, Witbier, Weissbier и Weizenbock. Водный экстракт в соответствии с настоящим изобретением получают из пророщенных зерен зерновой культуры, которые не подвергали сушке в печи. Пророщенные зерна зерновой культуры, которые не подвергали сушке в печи, как правило, имеют более светлый цвет, и следовательно, способы в соответствии с настоящим изобретением, являются особенно применимыми для получения более светлых сортов пива, в частности, для получения пива лагер. Более темные сорта пива также могут быть получены способами в соответствии с настоящим изобретением, например, путем добавления одного или нескольких высушенных в печи солодов в ходе затирания, как описывается в разделе «Получение водного экстракта».

Таким образом, настоящее изобретение также относится к способам получения напитка, предусматривающим стадии:

- получения водного экстракта способом в соответствии с настоящим изобретением;
- переработки указанного экстракт в напиток.

Алкогольные напитки, такие как пиво, согласно способам в соответствии с настоящим изобретением могут быть изготовлены из пророщенных зерен зерновой культуры. Пророщенные зерна зерновой культуры, в добавление к хмелю и дрожжам, способствуют вкусу и цвету пива.

После получения водного экстракта его можно перерабатывать в пиво любым способом, в том числе традиционными способами пивоварения. Неограниченные описания примеров подходящих способов для пивоварения можно найти, например, в публикациях Briggs et al. (1981) и Hough et al. (1982). Множество регулярно обновляемых способов анализа ячменных и пивных продуктов доступны, например, без ограничения, в Американской ассоциации специалистов по биохимии зерна (1995), Американском обществе специалистов по пивоварению (1992), Европейской конвенции по пивоварению (1998) и Институте пивоварения (1997). Следует признать, что многие специфические процедуры используют для конкретной пивоварни, при этом наиболее значимые вариации относятся к предпочтениям местных потребителей. Любой такой способ получения пива можно использовать с настоящим изобретением.

Первая стадия получения пива из водного экстракта предпочтительно предусматривает нагревание указанного водного экстракта, как описывается в настоящем документе выше, с последующей фазой охлаждения и необязательно вихревого перемешивания. Одно или несколько дополнительных соединений могут быть добавлены в водный экстракт, например, одно или несколько дополнительных соединений, описываемых ниже в разделе «Дополнительные соединения». После охлаждения водный экстракт можно переносить в бродильные чаны, содержащие дрожжи, например, пивные дрожжи, такие как *S. pastorianus* или *S. cerevisiae*. Водный экстракт можно сбраживать в течение любого подходящего периода времени, как правило, в диапазоне от 1 до 20, таком как от 1 до 10 суток. Сбраживание выполняют при любой применимой температуре, например, при температуре в диапазоне от 10 до 20°C. Способы также могут предусматривать добавление одного или нескольких ферментов, например, один или несколько ферментов могут быть добавлены в сусло перед сбраживанием или в ходе брожения. В частности, указанный фермент может представлять собой пролин-специфическую эндопротеазу. Неограничивающим примером пролин-специфической

эндопротеазы является «Brewer's Clarex», доступная из DSM. Согласно другим вариантам осуществления экзогенные ферменты не добавляют в ходе способов.

На протяжении длящегося несколько суток процесса брожения сахар превращается в спирт и $CO_2$ одновременно с образованием некоторых вкусовых веществ. Брожение может быть окончено в любое желаемое время, например, как только не будет наблюдаться никакого падения %P.

Затем пиво можно дополнительно обрабатывать, например, охлаждать. Его можно также фильтровать и/или осветлять, процесс, который дает приятный запах и менее дрожжевой вкус. Также можно добавлять добавки. Кроме того, можно добавлять $CO_2$. Наконец, пиво можно пастеризовать и/или фильтровать перед его упаковкой (например, переносом в контейнеры или кеги, бутилированием или консервированием). Пиво можно также пастеризовать стандартными способами.

Пиво, полученное в соответствии с настоящим изобретением, как правило, имеет приятный вкус и не имеет терпкости или имеет только небольшую терпкость. Вкус может быть проанализирован, например, дегустационной комиссией специалистов в области пива.

**Ячмень**

Согласно предпочтительным вариантам осуществления настоящего изобретения зерна зерновой культуры, подлежащие использованию со способами в соответствии с настоящим изобретением, представляют собой зерна ячменя.

Указанные зерна могут быть зернами любого растения ячменя. Однако согласно некоторым вариантам осуществления растение ячменя может обладать одной или несколькими специфическими характеристиками, например, одной или несколькими из характеристик, описываемых в настоящем документе ниже. При том, что различные характеристики обсуждаются отдельно в настоящем документе ниже, растение ячменя в соответствии с настоящим изобретением может обладать комбинацией этих характеристик.

Согласно одному варианту осуществления настоящего изобретения ячмень может представлять собой сорт (с.) голозерного ячменя. Настоящее изобретение также предусматривает, что ячмень является сортом ячменя с тонкой по природе шелухой, таким как сорт Admiral. Например, шелуха может составлять менее 7% общей массы зерна и шелухи.

Как упоминается выше, предпочтительно, чтобы водный экстракт, полученный в ходе затирания, характеризовался вязкостью, достаточно низкой для обеспечения

хорошей фильтруемости заторной смеси. Как также подробно описывается выше, растворимые β-глюканы могут способствовать высокой вязкости водного экстракта. Следовательно, согласно некоторым вариантам осуществления настоящего изобретения может быть предпочтительно применять растение зерновой культуры и, в частности, растение ячменя, характеризующееся низким содержанием β-глюкана, например, без β-глюкана, таким как содержание β-глюкана, которое ниже выявляемого уровня. Такие растения ячменя известны в уровне техники и включают в себя, например, растения ячменя, несущие мутацию в гене, кодирующем β-глюкансинтазу. Указанный ген может представлять собой ген, кодирующий полипептид под SEQ ID №: 2, изложенный в заявке на выдачу патента США № US2012/0030784. Например, растение ячменя может быть ячменем, включающим в себя ген дефицита β-глюкана, указанный под SEQ ID №: 1 или SEQ ID №: 18 в заявке на выдачу патента США № US2012/0030784. Растение ячменя также может содержать молчащий ген CslF6, что дает зерна ячменя с очень низким содержанием (1,3; 1,4)-β-глюкана (как описывается у Taketa et al., 2011).

Растение ячменя также могут быть растением ячменя, характеризующимся низким уровнем активности LOX. Такие растения ячменя известны в уровне техники и включают в себя, например, растения ячменя, несущие мутацию в гене, кодирующем LOX-1. Например, растение ячменя может быть растением ячменя, несущим любую из мутаций в гене LOX-1, описанном в WO 02/053721, WO 2005/087934 и WO 2004/085652.

Растение ячменя может также быть растением ячменя, несущим мутацию в гене, кодирующем липоксигеназу 1 (LOX-1), и/или в гене, кодирующем LOX-2. Например, растение ячменя может быть растением ячменя, несущим любые мутации в генах LOX-1 и LOX-2, описанных в WO 2010/075860.

Растение ячменя может также быть растением ячменя с низким уровнем активности ММТ. Такие растения ячменя известны в уровне техники и включают в себя, например, растения ячменя, несущие мутацию в гене, кодирующем ММТ. В частности, растение ячменя может быть растением ячменя, несущим любые мутации в гене ММТ, описанным в WO 2010/063288. Растение ячменя может также быть любыми из растений ячменя, описанных в WO 2011/150933.

Растение ячменя может также быть растением ячменя, характеризующимся повышенной передачей сигнала GA. В частности, растение ячменя может быть растением ячменя, несущим мутацию в гене *Slender 1*, который кодирует белок DELLA. Например, растение ячменя может быть растением ячменя, несущим любую из мутаций, описанных Chandler et al., 2013, например, в таблице 1 там. Например, растение ячменя может нести мутацию в гене *Slender 1*, что дает в результате мутантный ген *Slender 1*, кодирующий

мутантный белок DELLA, при этом указанный мутантный белок DELLA несет мутацию в одной или нескольких аминокислотах под номерами 46, 490, 280, 268, 271, 277, 231, 481, 282, 277, 227, 485 или 237, например, мутацию, выбранную из группы, состоящей из G46E, S490F, R268H, G271D, A277T, V231M, R481H, V282F, A277T, G227E, S485F и C237Y. Нумерация аминокислот представлена относительно последовательности белка DELLA, доступного под номером доступа в Genbank AK372064 или AF035820 (версия от 4 февраля 2013 года).

**Напиток**

Напитки, полученные путем переработки водного экстракта в соответствии с настоящим изобретением в напиток, могут обладать рядом полезных свойств, в том числе без ограничения свойств, описываемых в данном разделе.

Как правило, желательно, чтобы напитки в соответствии с настоящим изобретением содержали насколько возможно меньше диацетила. Следовательно, может быть предпочтительно, чтобы напиток содержал диацетил на уровне, который ниже порогового значения, что проявляется посторонним привкусом в светлом пиве. Предпочтительно напиток содержит максимум 30 частей на миллиард диацетила, более предпочтительно максимум 25 частей на миллиард диацетила, еще более предпочтительно максимум 20 частей на миллиард диацетила. В частности, это касается случая, если напиток является пивом, например, пивом лагер.

Напиток в соответствии с настоящим изобретением может, например, быть водным экстрактом, как описывается в настоящем документе, который необязательно может быть ферментирован. Таким образом, напиток может включать в себя или состоять из указанного водного экстракта или ферментированного водного экстракта и необязательно одного или нескольких дополнительных соединений. Указанные дополнительные соединения могут, например, быть любыми из дополнительных соединений, описываемых в данном документе ниже в разделе «Дополнительные соединения».

**Дополнительные соединения**

Способы в соответствии с настоящим изобретением могут предусматривать стадию добавления одного или нескольких дополнительных соединений. Указанные дополнительные соединения, например, могут представлять собой вкусоароматическое соединение, консервант, функциональный ингредиент, краситель, подсластитель, регулирующее pH средство или соль. Регулирующее pH средство, например, может представлять собой буфер или кислоту, такую как фосфорная кислота.

Функциональные ингредиенты могут представлять собой любой ингредиент, добавляемый для достижения заданной функции. Предпочтительно функциональный ингредиент делает напиток более полезным для здоровья. Неограничивающие примеры функциональных ингредиентов включают в себя витамины или минералы.

Консервант может представлять собой любой консервант пищевого качества, например, он может представлять собой бензойную кислоту, сорбиновую кислоту, сорбаты (например, сорбат калия), сульфиты и/или из соли.

Дополнительное соединение также может представлять собой $CO_2$. В частности, $CO_2$ может быть добавлен для получения газированного напитка.

Вкусоароматическое соединение, подлежащее использованию с настоящим изобретением, может представлять собой любое применимое вкусоароматическое соединение. Вкусоароматическое соединение, например, может быть выбрано из группы, состоящей из душистых веществ, растительных экстрактов, растительных концентратов, частей растений и травяных настоев. В частности, вкусоароматические соединения могут представлять собой хмель.

**Пункты**

Далее настоящее изобретение может быть описано следующими пунктами

1. Способ получения водного экстракта зерновой культуры, при этом указанный способ предусматривает стадии:

a. обеспечения зерен зерновой культуры;

b. воздействия на зерна зерновой культуры стадии проращивания с получением тем самым пророщенных зерен;

c. подвергания пророщенных зерен стадии тепловой обработки при температуре в диапазоне от 35 до 55°C;

d. мелкого измельчения пророщенных зерен, при этом указанные пророщенные зерна характеризуются содержанием воды по меньшей мере 20%, при условии, что указанные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 20% в любой момент времени между стадиями b) и d); и

e. получения водного экстракта указанных размолотых пророщенных зерен,

с получением тем самым водного экстракта зерновой культуры.

2. Способ получения водного экстракта зерновой культуры, при этом указанный способ предусматривает стадии:

a) обеспечения зерен зерновой культуры;

c) воздействия на зерна зерновой культуры стадии проращивания с получением тем самым пророщенных зерен;

d) подвергания пророщенных зерен стадии тепловой обработки при температуре в диапазоне от 35 до 55°C;

e) мелкого измельчения пророщенных зерен с получением тем самым размолотых пророщенных зерен, при этом указанные пророщенные зерна характеризуются содержанием воды по меньшей мере 20%, при условии, что указанные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 20% в любой момент времени между стадиями c) и e); и

f) получения водного экстракта указанных размолотых пророщенных зерен,

с получением тем самым водного экстракта зерновой культуры.

3. Способ по пункту 1, при котором стадию b) выполняют на протяжении максимум 72 часов.

4. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором стадия проращивания предусматривает инкубирование указанных зерен в водном растворе до содержания воды в зернах по меньшей мере 30%, при этом по меньшей мере 2 л $O_2$ на кг сухой массы зерен зерновой культуры пропускают через указанный водный раствор в час.

5. Способ по любому из пунктов 1-4, при котором стадия проращивания включает в себя

a. инкубирование указанных зерен в водном растворе на протяжении диапазона времени от 16 от 40 часов, при этом по меньшей мере 2 л $O_2$ на кг сухой массы зерен зерновой культуры пропускают через указанный водный раствор в час и при этом указанные зерна погружают в указанный водный раствор в ходе указанного инкубирования;

b. удаление избытка водного раствора; и

c. инкубирование влажных зерен на воздухе на протяжении диапазона времени от 20 до 50 часов при температуре в диапазоне от 15 до 30°C.

6. Способ по любому из пунктов 1-5, при котором зерновая культура представляет собой обрушенную зерновую культуру, и при этом способ предусматривает первоначальную стадию удаления по меньшей мере части указанной оболочки.

7. Способ по любому из предыдущих пунктов, при этом способ не предусматривает стадию сушки в печи пророщенных зерен.

8. Способ получения водного экстракта зерновой культуры, при этом указанный способ предусматривает стадии:

a. обеспечения зерен зерновой культуры, при этом зерновая культура представляет собой обрушенную зерновую культуру;

b. обработки указанных зерен зерновой культуры с удалением оболочки, при этом указанная обработка приводит к потере по меньшей мере 2% общей массы указанных зерен зерновой культуры;

c. воздействия на зерна зерновой культуры стадии проращивания с получением тем самым пророщенных зерен, при этом указанная стадия проращивания включает в себя

i. инкубирование указанных зерен в водном растворе на протяжении диапазона времени от 16 от 40 часов, при этом по меньшей мере 2 л $O_2$ на кг сухой массы зерен зерновой культуры пропускают через указанный водный раствор в час и при этом указанные зерна погружают в указанный водный раствор в ходе указанного инкубирования;

ii. удаление избытка водного раствора; и

iii. инкубирование влажных зерен на воздухе на протяжении диапазона времени от 18 до 50 часов при температуре в диапазоне от 15 до 30°C;

d. мелкого измельчения пророщенных зерен с получением тем самым размолотых пророщенных зерен, при этом указанные пророщенные зерна характеризуются содержанием воды по меньшей мере 20%; при условии, что указанные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 20% в любой момент времени между стадиями c) и d); и

e. получения водного экстракта указанных размолотых пророщенных зерен,

с получением тем самым водного экстракта зерновой культуры.

9. Способ по пункту 8, при этом способ предусматривает дополнительную стадию после стадии проращивания и перед стадией мелкого измельчения, при этом указанная дополнительная стадия предусматривает подвергание пророщенных зерен стадии тепловой обработки при температуре в диапазоне от 35 до 55°C.

10. Способ по любому из пунктов 5-9, при котором стадию инкубирования влажных зерен на воздухе выполняют с потоком атмосферного воздуха в диапазоне от 85 до 95 л/час на кг сухих зерен зерновой культуры.

11. Способ по любому из пунктов 5-9, при котором стадию инкубирования влажных зерен на воздухе выполняют с потоком $O_2$ в диапазоне от 17 до 21 л/час на кг сухих зерен зерновой культуры.

12. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором тепловую обработку выполняют при температуре в диапазоне от 40 до 50°C.

13. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором продолжительность тепловой обработки находится в диапазоне от 1 до 5 часов.

14. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором температуру регулируют, например, путем охлаждения.

15. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором стадия d) является необязательной.

16. Способ по любому из пунктов 4-15, при котором указанные зерна инкубируют в указанном водном растворе на протяжении диапазона времени от 20 до 72 часов.

17. Способ по любому из пунктов 5-1616, при котором стадия i) предусматривает инкубирование зерен в указанном водном растворе на протяжении диапазона времени от 16 до 40 часов, таком как, например, от 20 до 35 часов, предпочтительно в диапазоне от 20 до 30 часов.

18. Способ по любому из пунктов 55-17, при котором зерна зерновой культуры погружают в водный раствор в ходе всей стадии i) проращивания.

19. Способ по любому из пунктов 4, 6 и 12-16, при котором зерна погружают в водный раствор в ходе всей стадии проращивания.

20. Способ по любому из пунктов 4-19, при котором зерна зерновой культуры погружают в водный раствор, при этом по меньшей мере 2 л $O_2$ на кг сухой массы зерен зерновой культуры пропускают через указанный водный раствор в час на протяжении диапазона времени от 20 до 72 часов.

21. Способ по любому из пунктов 4-20, при котором зерна зерновой культуры погружают в водный раствор, при этом по меньшей мере 2 л $O_2$ на кг сухой массы зерен зерновой культуры пропускают через указанный водный раствор в час на протяжении диапазона времени от 16 от 40 часов, например, от 20 до 35 часов, предпочтительно на протяжении диапазона времени от 20 до 30 часов.

22. Способ по любому из пунктов 5-21, при котором стадию инкубирования указанных влажных зерен зерновой культуры в воздухе выполняют при аэрации.

23. Способ по любому из пунктов 5-22, при котором продолжительность стадии инкубирования указанных влажных зерен зерновой культуры в воздухе находится в диапазоне от 20 до 50 часов, более предпочтительно в диапазоне от 20 до 35 часов, например, в диапазоне от 20 до 30 часов.

24. Способ по любому из пунктов 5-23, при котором температура на стадии инкубирования указанных влажных зерен зерновой культуры в воздухе находится в диапазоне от 20 до 30°C.

25. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором вся стадия проращивания не превышает 72 часа, более предпочтительно не превышает 60 часов, еще более предпочтительно не превышает 54 часа.

26. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором всю стадию проращивания выполняют на протяжении по меньшей мере 44 часов, например, на протяжении по меньшей мере 46 часов.

27. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором всю стадию проращивания выполняют на протяжении диапазона времени от 44 до 72 часов.

28. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором всю стадию проращивания выполняют при температуре в диапазоне от 15 до 30°C, например, в диапазоне от 20 до 30°C.

29. Способ по любому из пунктов 4-24, при котором указанный водный раствор представляет собой воду.

30. Способ по любому из пунктов 4-26, при этом способ дополнительно предусматривает добавление гиббереллиновой кислоты (GA) в водный раствор.

31. Способ по пункту 30, при котором указанную GA добавляют в водный раствор при концентрации по меньшей мере 100 нМ, например, по меньшей мере 1000 нМ.

32. Способ по любому из пунктов 4-31, при котором водный раствор дополнительно включает в себя противовспенивающее средство.

33. Способ по любому из пунктов 4-32, при котором по меньшей мере 3 л, более предпочтительно по меньшей мере 4 л, еще более предпочтительно по меньшей мере 5 л, еще более предпочтительно по меньшей мере 6 л $O_2$ на кг сухой массы зерен зерновой культуры пропускают через указанный водный раствор в час.

34. Способ по любому из пунктов 4-33, при котором по меньшей мере 20 г $O_2$ на кг зерна зерновой культуры, более предпочтительно по меньшей мере 30 г $O_2$ на кг зерна зерновой культуры, еще более предпочтительно по меньшей мере 40 г $O_2$ на кг зерна зерновой культуры, например, в диапазоне от 40 до 100 г $O_2$ на кг зерна зерновой культуры, например, в диапазоне от 40 до 80 г $O_2$ на кг зерна зерновой культуры, например, 60 г $O_2$ на кг зерна зерновой культуры (в пересчете на сухое вещество), пропускают через смесь указанного водного раствора и зерна зерновой культуры в час.

35. Способ по любому из пунктов 4-34, при котором указанный $O_2$ включают в газовую смесь.

36. Способ по пункту 35, при котором газовая смесь представляет собой атмосферный воздух.

37. Способ по любому из пунктов 4-36, при котором по меньшей мере 10 л, предпочтительно по меньшей мере 15 л, более предпочтительно по меньшей мере 20 л, еще более предпочтительно по меньшей мере 25 л, еще более предпочтительно по меньшей мере 30 л атмосферного воздуха на кг сухой массы зерен зерновой культуры пропускают через указанный водный раствор в час.

38. Способ по любому из пунктов 4-37, при котором инкубирование в водном растворе выполняют при температуре в диапазоне от 15 до 30°C, предпочтительно при приблизительно 25°C.

39. Способ по любому из пунктов 4-38, при котором зерна держат в одном и том же контейнере в ходе стадий проращивания и стадии тепловой обработки.

40. Способ по любому из пунктов 4-39, при котором зерна зерновой культуры инкубируют в указанном водном растворе до содержания воды в них по меньшей мере 35%, например, по меньшей мере 37%.

41. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором зерна, обеспечиваемые на стадии а), были обработаны противомикробным средством.

42. Способ по пункту 40, при котором противомикробное средство представляет собой пероксид, такой как пероксид водорода.

43. Способ по любому из пунктов 4-42, при этом способ не предусматривает стадию удаления проростков.

44. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором удаление указанной оболочки приводит к потере в диапазоне от 2,5 до 7,5%, например, к потере в диапазоне от 3 до 6%, общей массы зерен зерновой культуры.

45. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором пророщенные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды по меньшей мере 25%, еще более предпочтительно по меньшей мере 30%, еще более предпочтительно по меньшей мере 35% на момент мелкого измельчения указанных зерен зерновой культуры.

46. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором пророщенные зерна зерновой культуры характеризовались содержанием воды не менее 25%, еще более предпочтительно не менее 30%, еще более предпочтительно не менее 35% в любой момент времени от завершения стадии проращивания до момента времени мелкого измельчения указанных зерен зерновой культуры.

47. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором температура пророщенных зерен является выше 35°C в любой момент времени между завершением стадии тепловой обработки и моментом мелкого измельчения указанных зерен зерновой культуры.

48. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором зерновая культура представляет собой ячмень.

49. Способ по пункту 48, при котором ячмень является голозерным ячменем или сортом ячменя, имеющим тонкую шелуху.

50. Способ по любому из пунктов 1-48, при котором зерновая культура представляет собой голозерную зерновую культуру, например, пшеницу или голозерный ячмень.

51. Способ по любому из пунктов 1-48, при котором зерновая культура представляет собой обрушенную зерновую культуру, такую как обрушенный ячмень.

52. Способ по любому из пунктов 1-48, при котором зерновая культура представляет собой ячмень, характеризующийся одним или несколькими из следующих:

B. несет мутацию в гене, кодирующем β-глюкансинтазу;

C. несет мутацию в гене, кодирующем LOX-1;

D. несет мутацию в гене, кодирующем LOX-2;

E. несет мутацию в гене, кодирующем MMT; и/или

F. несет мутацию в гене, кодирующем DELLA.

53. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором пророщенные зерна характеризуются α-амилазной активностью по меньшей мере 40 ед./г, такой как, например, по меньшей мере 50 ед./г, зерна зерновой культуры, предпочтительно по меньшей мере 60 ед./г зерна зерновой культуры в пересчете на сухую массу.

54. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором пророщенные зерна характеризовались активностью конечной декстриназы по меньшей мере 5 миллиед./г, предпочтительно по меньшей мере 9 ед./г зерна в пересчете на сухую массу.

55. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором пророщенные зерна содержат максимум 4 г проростков (в пересчете на сухое вещество) на 100 г пророщенных зерен зерновой культуры (в пересчете на сухое вещество).

56. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором пророщенные зерна содержат максимум 2 г проростков (в пересчете на сухое вещество) на 100 г пророщенных зерен зерновой культуры (в пересчете на сухое вещество).

57. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором пророщенные зерна непосредственно перед стадией их мелкого измельчения характеризуются содержанием нитроаминов максимум 0,15 мкг/кг, предпочтительно максимум 0,12 мкг/кг, например, максимум 0,10 мкг/кг, зерен зерновой культуры (в пересчете на сухое вещество).

58. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором стадия C. включает в себя затирание указанных размолотых пророщенных зерен с раствором для затирания при температуре в диапазоне от 50 до 80°C.

59. Способ по пункту 58, при котором указанное затирание выполняют в присутствии одного или нескольких дополнительных гидролитических ферментов.

60. Способ по пункту 59, при котором по меньшей мере один гидролитический фермент выбран из группы, состоящей из разлагающих клеточную стенку и крахмал ферментов, в том числе без ограничения α-амилазы, β-амилазы, конечной декстриназы, пуллуланазы, β-глюканазы, ксиланазы, глюкоамилазы и протеазы.

61. Способ по любому из пунктов 58-60, при котором указанное затирание выполняют в присутствии по меньшей мере одной β-глюканазы и по меньшей мере одной ксиланазы.

62. Способ по любому из пунктов 58-61, при котором максимум 700 ед., предпочтительно максимум 350 ед. экзогенной глюкоамилазы и/или α-амилазы на г пророщенных зерен зерновой культуры (в пересчете на сухую массу) добавляют в ходе указанного затирания.

63. Способ по любому из пунктов 58-62, при котором максимум 100 PUN экзогенной пуллуланазы на г пророщенных зерен зерновой культуры (в пересчете на сухую массу) добавляют в ходе указанного затирания.

64. Способ по любому из пунктов 58-59 и 62-63, при котором зерновая культура характеризуется низким содержанием β-глюкана в зернах, и при этом β-глюканазу не добавляют в ходе затирания.

65. Способ по любому из предыдущих пунктов, при этом способ дополнительно предусматривает стадию фильтрования указанного водного экстракта.

66. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором водный экстракт характеризуется фильтруемостью по меньшей мере 50%, такой как по меньшей мере 60%.

67. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором водный экстракт включает в себя максимум 200 мг/л β-глюкана.

68. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором водный экстракт включает в себя по меньшей мере 10 г, например, по меньшей мере 15 г мальтозы на л.

69. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором водный экстракт включает в себя FAN в диапазоне от 150 до 400 мг/л.

70. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором водный экстракт включает в себя по меньшей мере 60 мг/л, предпочтительно по меньшей мере 65 мг/л валина.

71. Способ по любому из предыдущих пунктов, при этом способ не предусматривает стадию сушки в печи.

72. Способ по любому из предыдущих пунктов, при этом способ не предусматривает стадию сушки пророщенных зерен в печи.

73. Способ по любому из предыдущих пунктов, при этом способ не предусматривает стадию удаления проростков.

74. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором пророщенные зерна содержат максимум 4 г проростков (в пересчете на сухое вещество) на 100 г пророщенных зерен зерновой культуры (в пересчете на сухое вещество).

75. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором пророщенные зерна содержат максимум 2 г проростков (в пересчете на сухое вещество) на 100 г пророщенных зерен зерновой культуры (в пересчете на сухое вещество).

76. Способ получения напитка, при этом указанный способ предусматривает стадии:

i. получения водного экстракта способом по любому из предыдущих пунктов;

ii. переработки указанного экстракта в напиток.

77. Способ по пункту 72, при котором стадия ii. включает в себя стадии:

a. нагревания указанного водного экстракта необязательно в присутствии хмеля или экстракта хмеля;

b. охлаждения водного экстракта;

c. сбраживания указанного водного экстракта с дрожжами с получением тем самым сброженного напитка.

78. Способ по пункту 77, при этом способ дополнительно предусматривает стадию осаждения, выполняемую после стадии a. или стадии b.

79. Способ по любому из предыдущих пунктов, при этом весь способ выполняют на одном месте.

80. Способ по любому из пунктов 72-79, при котором напиток включает в себя максимум 25, например, максимум 20, частей на миллиард диацетила.

81. Напиток, полученный способом по любому из пунктов 76-80.

82. Водный экстракт зерновой культуры, полученный способом по любому из пунктов 1-75.

83. Способ получения водного экстракта зерновой культуры, при этом указанный способ предусматривает стадии:

a) обеспечения зерен зерновой культуры;

c) воздействия на зерна зерновой культуры стадии проращивания с получением тем самым пророщенных зерен;

d) подвергания пророщенных зерен стадии тепловой обработки при температуре в диапазоне от 35 до 55°C;

e) мелкого измельчения пророщенных зерен, при этом указанные пророщенные зерна характеризуются содержанием воды по меньшей мере 20%, при условии, что указанные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 20% в любой момент времени между стадиями b) и d); и

f) получения водного экстракта указанных размолотых пророщенных зерен,

с получением тем самым водного экстракта зерновой культуры.

78. Способ получения водного экстракта зерновой культуры, при этом указанный способ предусматривает стадии:

a) обеспечения зерен зерновой культуры, при этом зерновая культура представляет собой обрушенную зерновую культуру;

b) обработки указанных зерен зерновой культуры с удалением оболочки, при этом указанная обработка приводит к потере по меньшей мере 2% общей массы указанных зерен зерновой культуры;

c) воздействия на зерна зерновой культуры стадии проращивания с получением тем самым пророщенных зерен, при этом указанная стадия проращивания включает в себя

i. инкубирование указанных зерен в водном растворе на протяжении диапазона времени от 16 от 40 часов, при этом по меньшей мере 2 л $O_2$ на кг сухой массы зерен зерновой культуры пропускают через указанный водный раствор в час и при этом указанные зерна погружают в указанный водный раствор в ходе указанного инкубирования;

ii. удаление избытка водного раствора; и

iii. инкубирование влажных зерен на воздухе на протяжении диапазона времени от 18 до 50 часов при температуре в диапазоне от 15 до 30°C;

e) мелкого измельчения пророщенных зерен, при этом указанные пророщенные зерна характеризуются содержанием воды по меньшей мере 20%; при условии, что указанные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 20% в любой момент времени между стадиями c) и d); и

f) получения водного экстракта указанных размолотых пророщенных зерен,

с получением тем самым водного экстракта зерновой культуры.

**Примеры**

Настоящее изобретение далее иллюстрируется следующими примерами. Однако их не следует считать ограничивающими настоящее изобретение. Все образцы ячменя, используемые в примерах в настоящем документе ниже, анализировали следующим образом.

– *Тест проращивания*

– Все образцы ячменя, используемые в примерах, оценивали по параметрам показателя прорастания, энергии прорастания и чувствительности к воде. Данные основаны на размере образца 100 зерен ячменя для теста проращивания в 4-мл масштабе и размере образца 100 зерен ячменя для теста проращивания в 8-мл масштабе согласно способу Analytica-EBC 3.6.2 Энергия прорастания ячменя (способ BRF).

– *Характеристика образцов ячменя*

▪ Массы тысячи зерновок определяли автоматическим подсчетом при помощи устройства Data Count JR, при этом для фракционирования по размеру с использованием Pfeuffer Sortimat K3 разбивали на 4 класса разных зерен с (X): X > 2,8 мм; 2,8 < X > 2,5 мм; 2,5 < X > 2,2 мм; X <2,2 мм. Данные фракционирования по размеру рассчитывали на основе 100-г образцов зерна.

▪ Содержание белка, воды и крахмала в образцах ячменя определяли при помощи устройства Foss 1241 NIT с использованием калибровки ячменя (FOSS BY213271; предоставлено компанией Foss, Дания). Перед (например, за 24 часа) инкубированием в водном растворе содержание воды 100-г образцов зерна повторно определяли при помощи устройства Foss 1241 NIT с использованием калибровки ячменя Foss BY303300 (Foss, Дания).

▪ Содержание воды в зерне определяли путем измерения сначала массы соответствующего образца ячменя, а затем сушки указанного образца и определения массы высушенного образца. Разницу массы влажного и сухого образца рассматривают как воду, и содержание воды равняется массе воды, поделенной на общую массу образца (влажного образца).

– *Анализ пророщенных зерен*

– Образцы пророщенных зерен тестировали по следующим параметрам (масс./масс.): содержание воды, содержание белка, растворимый белок и экстракт образца солода. Значения определяли при помощи устройства Foss 1241 NIT, откалиброванного согласно данным, представленным Foss (Дания; калибровка MA000010).

**Пример 1. Общий способ замачивания и проращивания**

Сухое зерно ячменя помещали в водный раствор в плексигласовый цилиндр и непрерывно аэрировали атмосферным воздухом снизу столбца зерна. Схематическое изображение используемого оборудования представлено в настоящем документе на фиг. 1 и 2. Воздушный поток устанавливали при помощи массового расходомера SmartTrak® 50 и контроллера (Sierra, Калифорния, США), а температуру измеряли при помощи точного термометра Testo 735 (Testo, Германия).

Датчики для измерения воздушного потока, температуры, pH, проводимости, окислительно-восстановительного потенциала и содержания $O_2$ воды для замачивания включали в эту систему. Датчики позволяли не только контролировать процесс в режиме реального времени, но также регулировать условия замачивания и проращивания в ходе процессов; такой уровень контроля невозможен путем следования существующим протоколам осолаживания и пивоварения.

GA является фитогормоном, который активирует алейроновый слой в прорастающем ячмене. Многие солодовщики добавляют GA при низкой концентрации в ходе процесса осолаживания. В данном случае различные концентрации GA добавляют в воду для инкубирования зерен в начале процесса. Раствор $GA_3$ получали из гиббереллиновой кислоты (G7645, Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури, США) в абсолютном этаноле и добавляли в воду.

Как правило, ячмень замачивали и проращивали согласно различным режимам замачивания.

WA = вода/воздух

Инкубирование в баке в водопроводной воде, содержащей $GA_3$ и противовспенивающее средство, при 25°C, при этом воздух проходит через воду с днища бака в ходе всего инкубирования.

A = воздушная пауза

Инкубирование влажных зерен зерновой культуры в баке. В ходе всего инкубирования воздух проходит через влажное зерно зерновой культуры с днища бака.

**Пример 2. Способы определения ферментативной активности**

При проращивании зерно ячменя начинает секретировать ряд гидролитических ферментов, таких как α-амилазы, конечные декстриназы и (1,3; 1,4)-β-глюканазы. Как правило, эти ферментативные активности выявляют зависимым от времени образом, при этом активности α-амилазы, β-амилазы и/или конечной декстриназы применимы в качестве общих маркеров активности гидролитических ферментов. Таким образом,

активности α-амилазы и конечной декстриназы определяли после проращивания, выполняемого согласно в соответствии с настоящим изобретением.

*Получение образцов*

Перед анализом ферментативной активности образцы пророщенного зерна размалывали при помощи стандартной мельницы Foss Cyclotech (Foss, Дания), оборудованной шлифовальным кольцом из карбида вольфрама (Foss 10004463), никелированной мешалкой (Foss 10002666) и экраном с выпускными отверстия в 1 мм (Foss 10001989). Все измерения ферментативной активности в пророщенном зерне ячменя проводили в течение 48 часов после размалывания образца.

*α-Амилазная активность*

Определение α-амилазной активности пророщенных зерен проводили на основе муки, полученной, как описано выше в разделе «Получение образцов». В анализах по определению α-амилазной активности использовали набор Ceralpha от Megazyme с использованием стандартного лабораторного оборудования. Анализы проводили согласно протоколу изготовителя (K-CERA 01/12), в том числе вычисление α-амилазной активности.

*β-Амилазная активность*

При измерении бета-амилазной активности пророщенный зерен муку получали, как описано выше в разделе «Получение образцов». Анализы β-амилазной активности выполняли, следуя рекомендациям, предоставленным с набором Betamyl от Megazyme (K-BETA3).

*Активность конечной декстриназы*

Для измерения активности конечной декстриназы в пророщенных зернах муку получали, как описано выше в разделе «Получение образцов». Активность конечной декстриназы определяли при помощи набора Limit Dextrizyme T-LDZ1000 от Megazyme. Анализы, в том числе измерение активности, проводили согласно протоколу изготовителя (T-LDZ100007/9).

**Пример 3. Развитие зерна в ходе процедуры замачивания и проращивания**

Линию голозерного ячменя и линии обрушенного ячменя инкубировали в плексигласовом цилиндре согласно общей процедуре, описанной в примере 1. Процедуру инкубирования выполняли при 15°C и 25°C. Зерна аэрировали снизу с варьирующими содержаниями атмосферного воздуха на протяжении разных периодов времени, в течение которых повышалось содержание влаги в зерне и начиналось прорастание. Развитие зерна

анализировали после 24 часов и 48 часов инкубирования, а поглощение воды зернами подтверждали путем определения содержания воды как % (масс./масс.).

В деталях, зерна линии голозерного ячменя переносили в плексигласовый цилиндр и инкубировали с использованием режима WA. Зерна сначала инкубировали в течение 3 часов в 1% P3-гипохлоране (Ecolab, Швейцария) с последующим инкубированием в течение 45 часов в воде, доведенной до 1000 нМ гиббереллиновой кислотой (GA) и 0,01% Foamazol FCD511 (AB Vickers, Бертон-апон-Трент, Великобритания). Инкубирование проводили либо при 15°C, либо при 25°C и зерна аэрировали 30, 60, 90 или 120 л/час атмосферного воздуха. Образцы собирали через 24 часа и 48 часов. Результаты подытожены на фиг. 3. Как показано, доступ воздуха сильно ускорял проращивание ячменя. При сравнении с неаэрируемым образцом (0 л/час) все образцы, подвергаемые действию воздушного потока, характеризовались заметной разницей развития зерна. В частности, зерна имели видимый росток более 1 мм уже через 24 часа при 15°C и 30 л/час воздушного потока. Усиление воздушного потока вызывало дополнительное развитие ростка через 24 часа при 15°C. При 25°C некоторые зерна даже показывали видимые проростки (60, 90 или 120 л/час). Увеличение времени инкубирования приводило к улучшению развития, при этом все зерна, подвергаемые действию воздушного потока, характеризовались прорастанием и развитием видимых проростков через 48 часа. С увеличением температуры инкубирования наблюдали усиление развития ростков и проростков. Воздушный поток 90 л/час соответствовал 51 г $O_2$ в час. При расчете $O_2$ на л $H_2O$ количество будет изменяться с течением времени, поскольку зерна зерновой культуры поглощают воду в ходе инкубирования. Обычно воздушный поток 90 л/час соответствует 64-121 г $O_2$ на л $H_2O$ в час.

Такой же эксперимент проводили при помощи зерен линии обрушенного ячменя, и результаты подытожены на фиг. 4. Зерна линии обрушенного ячменя также имели видимый росток более 1 мм после 24 часов инкубирования при 25°C и 30 л/час воздушного потока. Увеличение времени инкубирования приводило к улучшению развития у всех зерен, подвергаемых действию воздушного потока 60 л/час, характеризующихся прорастанием и развитием видимых проростков через 48 часов.

Результаты поглощения воды зернами подытожены в таблице 1 (голозерный ячмень) и таблице 2 (обрушенный ячмень) ниже. Содержание воды, по-видимому, не сильно зависело от воздушного потока, если воздушный поток составлял по меньшей мере 30 л/час. Напротив, содержание воды было намного больше через 24 часа при 25°C, чем при 15°C.

**Таблица 1.** Поглощение воды (%), голозерные зерна ячменя

| *Воздушный поток* | *Температура (T) = 15°C* | | | *T = 25°C* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 часов | 24 часа | 48 часов | 0 часов | 24 часа | 48 часов |
| 0 л/час | 11,4 | 31,7 ± 0,6 | 37,1 ± 1,4 | 11,4 | 36,7 ± 1,3 | 43,3 ± 0,9 |
| 30 л/час | 11,4 | 35,5 ± 1,5 | 41,5 ± 1,8 | 11,4 | 40,6 ± 0,5 | 46,0 ± 0,1 |
| 60 л/час | 11,4 | 35,1 ± 1,0 | 42,0 ± 1,2 | 11,4 | 38,9 ± 0,1 | 46,5 ± 0,6 |
| 90 л/час | 11,4 | 34,3 ± 0,9 | 42,6 ± 1,4 | 11,4 | 38,3 ± 1,7 | 45,7 ± 0,5 |
| 120 л/час | 11,4 | 35,5 ± 0,8 | 43,2 ± 1,1 | 11,4 | 38,2 ± 2,2 | 44,9 ± 0,6 |

**Таблица 2.** Поглощение воды (%), зерна обрушенного ячменя

| *Воздушный поток* | *Температура (T) = 15°C* | | | *T = 25°C* | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 часов | 24 часа | 48 часов | 0 часов | 24 часа | 48 часов |
| 0 л/час | 13,6 | 32,5 ± 0,7 | 36,5 ± 0,3 | 13,6 | 38,3 ± 0,6 | 42,6 ± 0,7 |
| 30 л/час | 13,6 | 33,4 ± 0,3 | 39,0 ± 0,4 | 13,6 | 39,3 ± 0,2 | 46,7 ± 0,6 |
| 60 л/час | 13,6 | 32,9 ± 0,7 | 39,4 ± 0,6 | 13,6 | 39,7 ± 1,2 | 47,9 ± 0,2 |
| 90 л/час | 13,6 | 34,1 ± 0,3 | 38,5 ± 0,2 | 13,6 | 40,3 ± 0,4 | 47,2 ± 0,5 |
| 120 л/час | 13,6 | 33,3 ± 0,5 | 39,0 ± 0,4 | 13,6 | 40,1 ± 0,3 | 47,3 ± 0,8 |

Следовательно, результаты в соответствии с настоящим изобретением показывают, что температура 25°C может быть более предпочтительной для ранних скоростей поглощения воды зерном и, следовательно, общей скорости прорастания.

**Пример 4. Эффект температур воздушной паузы в отношении активностей α-амилазы, β-амилазы и свободной конечной декстриназы**

Обрушенный ячмень инкубировали в плексигласовом цилиндре (WA) в течение 24 часов с последующей обработкой с воздушной паузой (A) в течение 24 часов при различных диапазонах температур. Затем анализировали активности α-амилазы, β-амилазы и свободной конечной декстриназы, как описывается в примере 2.

Инкубирование в воде с аэрацией также может называться «WA» в настоящем документе, тогда как инкубирование в воздухе с аэрацией может называться «A».

В первом эксперименте обрушенный ячмень (обрушенный 03) замачивали в течение 24 часов (WA) в водопроводной воде, содержащей 0,01% $H_2O_2$, 1000 нМ $GA_3$ и 0,01% противовспенивающего средства Sigma 204. В ходе WA инкубирования воздух барботировали при 90 л/час на кг сухого зерна ячменя при 25°C. Пропитывание в воде сопровождалось воздушной паузой (A) при различных диапазонах температур: a) 18 часов аэрации (90 л/час) при 25°C, а затем 6 часов аэрации (90 л/час) либо при 40°C, 50°C, либо при 60°C, или b) 24 часов аэрации (90 л/час) либо при 40°C, 50°C, либо при 60°C (фиг. 5). Аэрацию в ходе воздушной паузы осуществляли путем пропускания 90 л воздуха через зерна ячменя в час на кг сухого зерна ячменя.

Второй эксперимент выполняли с использованием тех же условий для водного пропитывания (WA) с последующей 24-часовой воздушной паузой (A) с аэрацией (90 л/час) при 25°C. Затем период воздушной паузы продлевали еще на c) 2 или d) 4 часа при 40°C, 50°C или 60°C (фиг. 6).

Режимы воздушной паузы с a) 18 часами при 25°C, а затем 6 часами при 40°C или b) 24 часами при 40°C негативно сказывался на активностиα-амилазы по сравнению с 24 часами при 25°C (фиг. 5 и 7). Напротив, повышение температуры после 24 часов при 25°C до 40 или 50°C в течение c) 2 или d) 4 часов положительно сказывалось на активностях α-амилазы и, в меньшей степени, конечной декстриназы (фиг. 6). Таким образом, для получения высоких активностей гидролитических ферментов предпочтительна первоначальная воздушная пауза в ходе проращивания при оптимальной температуре (25°C или 30°C) в течение по меньшей мере 24 часов с последующим повышением температуры (оптимальным является повышение до 40°C в течение 4 часов). Продемонстрировали, что такая обработка повышает общую активность α-амилаза и, в меньшей степени, активности конечной декстриназы.

**Пример 5. Эффект обрушения перед проращиванием**

Эффект обрушения перед проращиванием анализировали на основании активностей α-амилазы, β-амилазы и свободной конечной декстриназы на панели 10 разных линий обрушенного ячменя. Обработку, включающую в себя a) обрушение, 24-часовое WA инкубирование и 24-часовую воздушную паузу (A), сравнивали с b) 48-часовым WA инкубированием без обрушения.

Обработка 1 (включающая в себя обрушение)

Линии обрушенного ячменя (1-10) обрушивали механической обработкой наждачной бумагой в течение 1 минуты для частичного удаления шелухи. Обработка давала потерю 3-6% массы в зависимости от линии обрушенного ячменя. Обрушенный ячмень затем инкубировали (WA) при 25°C в течение 24 часов в аэрируемой при 90 л/час воде, содержащей 0,01% $H_2O_2$, 0,01% противовспенивающего средства Sigma 204, 1000 нМ $GA_3$, с последующей 24-часовой аэрацией (A) при 25°C при 90 л/час.

Обработка 2 (без обрушения)

Обрушенный ячмень (1-10) инкубировали (WA) в течение 48 часов в аэрируемой при 90 л/час воде, содержащей 0,01% $H_2O_2$, 1000 нМ $GA_3$ и 0,01% противовспенивающего средства, при 25°C.

Результаты показывают, что обработка 1, которая включает в себя первоначальное обрушение, повышает активности α-амилазы и конечной декстриназы до десяти раз и повышает активность β-амилазы в меньшей степени по сравнению с обработкой 2 (фиг. 7).

**Пример 6. Оценивание образования проростков**

Пророщенный ячмень получали согласно общим способам, описанным в примере 1. Более конкретно, зерновки ячменя сортов голозерный 01 и обрушенный 02 дезинфицировали промыванием 0,1% гипохлораном в течение 1 часа, затем замачивали и проращивали инкубированием в течение 48 часов в водопроводной воде, содержащей 1000 нМ GA и 0,01% противовспенивающего средства. Инкубирование выполняли при 25°C и 90 л/час воздуха пропускали через воду, подавая снизу бака, в течение всего инкубирования. Пророщенный ячмень сушили замораживанием и взвешивали. Образовавшиеся проростки удаляли при помощи оборудования для пива «Старый Мюнхен» и пророщенный ячмень снова взвешивали. Разницу массы до и после удаления проростков рассматривали как массу проростков. Определяли массу 3 разных образцов. Результаты представлены в таблице 3.

**Таблица 3**

| | **Голозерный 01** | | | **Обрушенный 02** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Масса до (г) | Масса после (г) | Масса проростков (г) | Масса до (г) | Масса после (г) | Масса проростков (г) |
| 1 | 99,864 | 98,822 | 1,042 | 99,882 | 99,387 | 0,495 |
| 2 | 100,024 | 99,135 | 0,889 | 99,871 | 99,47 | 0,401 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 98,599 | 97,629 | 0,97 | 99,704 | 99,282 | 0,422 |
| среднее | | | 0,97 | | | 0,44 |
| коэффициент Стьюдента | | | 0,08 | | | 0,05 |

Во втором эксперименте зерновки ячменя из той же партии голозерного 01 и обрушенного 02 замачивали и проращивали в течение 96 часов стандартными способами. Пророщенный ячмень сушили замораживанием и взвешивали, а проростки удаляли при помощи оборудования для пива «Старый Мюнхен». После удаления проростков ячмень снова взвешивали и разницу массы перед и после удаления проростков рассматривали как массу проростков. Результаты представлены в таблице 4.

**Таблица 4**

| | **Голозерный 01** | | | **Обрушенный 02** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Масса до (г) | Масса после (г) | Масса проростков (г) | Масса до (г) | Масса после (г) | Масса проростков (г) |
| 1 | 95,167 | 87,026 | 8,141 | 96,343 | 89,867 | 6,476 |
| 2 | 95,281 | 87,046 | 8,235 | 95,602 | 89,102 | 6,5 |
| 3 | 95,318 | 87,113 | 8,205 | 95,338 | 89,072 | 6,266 |
| среднее | | | 8,19 | | | 6,41 |
| коэффициент Стьюдента | | | 0,05 | | | 0,13 |

В таблице 5 показано сравнение массы (в г) проростков ячменя, пророщенного способами в соответствии с настоящим изобретением (WA 48 часов), и ячменя, замачиваемого традиционными способами (осолаживание 96 часов). Очевидно, что ячмень, пророщенный способами в соответствии с настоящим изобретением, характеризуется существенно сниженным образованием проростков. На фиг. 8 показана потеря массы в % после удаление проростков.

**Таблица 5**

| Ячмень_способ | Средняя масса проростков (г) | коэффициент Стьюдента |
|---|---|---|
| Обрушенный 02_ 48 часов WA | 0,44 | 0,05 |
| Голозерный 01_ 48 часов WA | 0,97 | 0,08 |
| Обрушенный 02_ осолаживание 96 часов | 6,41 | 0,13 |
| Голозерный 01_ осолаживание 96 часов | 8,19 | 0,05 |

**Пример 7. Оценивание содержания NDMA**

Нитрозамин NDMA образуется, в частности, в корнях при обжиге солода (Wainwright (1986) J Inst Brew 92 73-80). Как описывается выше в примере 6, преимуществом пророщенных зерен зерновой культуры, полученных способами в соответствии с настоящим изобретением, является то, что они содержат меньше корней по сравнению с обычным зеленым солодом. Содержание NDMA в существующем солоде низкое, однако может быть предпочтительным дальнейшее снижение содержания.

Содержание NDMA анализировали в ячмене (ячмень-1), в пророщенных зернах ячменя, полученных согласно способам в соответствии с настоящим изобретением (обозначенно «солод 1a» в данном примере), и в трех полученных промышленным путем солодах (солод-1b, солод 2 и солод 3). Все полученные промышленным путем солоды были обработаны с удалением проростков стандартными способами. Ячмень-1, солод-1a и солод-1b получали из одной и той же партии сорта обрушенного ячменя (обрушенный 02), тогда как два других образца солода - солод-2 и солод-3 – происходили из других партий ячменя.

Солод-1a получали согласно общим способам, описанным в примере 1. В деталях, зерновки ячменя дезинфицировали при помощи промывания 0,1% гипохлораном в течение 1 часа, затем замачивали и проращивали инкубированием (WA) в течение 48 часов в водопроводной воде, содержащей 1000 нМ GA и 0,01% противовспенивающего средства. Инкубирование выполняли при 25°C и 90 л/ч воздуха пропускали через воду, подавая снизу бака, в ходе всего инкубирования.

Пророщенный ячменя сушили замораживанием перед анализом на содержание NDMA при помощи GC-MS. Результаты показаны на фиг. 9. Анализ явно показывал, что меньше NDMA присутствует в солоде-1a по сравнению с солодами, полученными стандартным осолаживанием, включающим в себя обжиг, даже несмотря на то, что стандарт подвергали удалению стеблей.

**Пример 8. Затирание**

Зерна голозерного ячменя проращивали, как описывается в настоящем документе выше в примере 7, с разным потоком воздуха (0, 45 или 90 л/час). После 2 суток непрерывного замачивания и проращивания жидкую фазу сливали с зерен и зерно размалывали мокрым способом в лабораторном гомогенизаторе (Omega Juicer 8226, Omega, США). Выполняли экстракцию размолотых щерен в воде с использованием схемы затирания, описанной на фиг. 10. Этот процесс также можно называть «затиранием». В ходе затирания, как правило, также происходит осахаривание. В ходе затирания, как правило, в воду добавляют $CaCl_2$ и $H_3PO_4$.

Во время процесса промышленного затирания препараты экзогенных ферментов можно добавлять для продолжения превращения частично разложившегося крахмала, запасного белка и полисахаридов клеточной стенки в сбраживаемые сахара и аминокислоту, которые затем поддерживают рост дрожжей при брожении. Сравнивали характеристики затирания в присутствии и в отсутствие смеси ферментов Ultraflo Max для пивоварения (Novozymes, Дания). Ultraflo Max представляет собой смесь ферментов с β-глюканазной и ксиланазной активностями. После затирания экстракты фильтровали с использованием стандартного заторного фильтра.

Эффективность смеси экзогенных ферментов тестировали путем измерения фильтруемости заторной смеси, которая оставалась после процесса затирания. Фильтруемость определяли с использованием фильтровальной воронки с внутренним диаметром сверху 140 мм (Urbanti Pequannock, Нью-Джерси, США), оснащенной MN 614 ¼ ∅ 320 мм REF 527032 (Macherey Nagel, Дюреи, Германия). Массу образцов регистрировали с использованием стандартных весов (MPB1502 L, Mettler Toledo, Швейцария). Фильтруемость определяли как общее количество жидкости, полученной после фильтрации в течение 60 минут заторной смеси, включающей в себя 400 мл раствора для затирания, ранее дополненного 100 г размолотого пророщенного ячменя.

Результаты эксперимента кратко описываются на фиг. 11 и демонстрируют, что усиленный воздушный поток в ходе инкубирования дает повышенную фильтруемость сусла.

**Пример 9. Сусло**

Сусло получали, как подробно описывается в экспериментах примера 8, с использованием пророщенных зерен ячменя, полученных, как описывается в примере 7. Пророщенные зерна ячменя размалывали мокрым способом и затирали, как описывается в

примере 8, либо в присутствии или в отсутствие смеси ферментов Ultraflo Max (Novozymes, Дания).

Содержание сбраживаемых сахаров - фруктозы, сахарозы, глюкозы, мальтозы и мальтотриозы - определяли следующим образом. После кипячения сусла его разбавляли 1:2000 водой MilliQ, а затем фильтровали через 0,2-мкм нейлоновой мембранный фильтр (Titan3 30 мм, Thermo Scientific, Калифорния, США). Аликвоты по 10 мкл сначала помещали в колонку CarboPac SA10-4 мкм, а затем анализировали на безреагентной системе для HPLC Dionex ICS 5000+, оснащенной колонкой CarboPac SA10-4 мкм Guard (4 × 50 мм). Элюирование отдельных молекул проводили при помощи изократического цикла 25 мМ КОН в течение 20 минут. После вычитания исходного уровня и использования углеводов с чистотой для HPLC в качестве эталонных стандартов [D-(+)-глюкоза, D-фруктоза, D-(+)-мальтоза, мальтотриоза] углеводы количественно определяли интегрированием площади пика.

Результаты показаны на фиг. 12 и демонстрируют, что усиленный воздушный поток в ходе инкубирования дает повышенные количества сбраживаемых сахаров.

**Пример 10. Мелкомасштабное пивоварение**

**Брожение**

Сусло, полученное как описывается в примере 8, кипятили в присутствии хмеля или экстракта хмеля и процесс брожения начинали посредством традиционной инокуляции экстракта подходящим штаммом пивных дрожжей. Брожение, фильтрацию пива и бутилирование выполняли согласно традиционным протоколам.

**Мелкомасштабное пивоварение**

В примере сравнивают пиво, полученное из двух сортов ячменя, обработанных согласно способам, описываемым в настоящем документе, с пивом, полученным из несоложенного ячменя, обработанного коммерчески доступной смесью пивных ферментов. Сусло и готовое пиво анализировали и сравнивали с коммерческим эталонным пивом лагер (обозначенным «эталон» в настоящем документе), если возможно. Данные эталонного пива лагер получали отдельно из других источников.

*Материал*

Если не указано иное, материал использовали как есть.

| | **Испытание 1** | **Испытание 2** | **Испытание 3** | **Испытание 4** | **Эталон** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Сорт ячменя** | Голозерный 01 | Обрушенный 02 | Обрушенный 02 | Голозерный 01 | 80% солода 20% ячменя |
| **Обработка перед размалыванием** | при 90 л/час воздуха 24 часа WA 24 часа A | при 90 л/час воздуха 24 часа WA 24 часа A | --- | --- | Солод, полученный стандартной процедурой |

*Помол*

| **Обработанный материал** | **Необработанный материал** |
|---|---|
| Размолотый на бытовой соковыжималке (Omega J822C) | Размолотый на MULTICRACKER |

*Пивоварение*

Пивоварение осуществляли при стандартным условиях с использованием отношения твердые частицы/вода 1 к 4.

Пророщенный ячмень, необработанный материал и/или солод затирали с использованием стандартной программы затирания с 2-стадийным осахариванием в присутствии указанных ферментов.

| | **Обработанный материал (испытания 1 и 2)** | **Необработанный материал (испытание 3)** | **Необработанный материал (испытание 4)** | **Эталон** |
|---|---|---|---|---|
| **pH** | 5,20 | 5,70 | 5,70 | Как правило 5,20 |
| **Добавление фермента** | Ultraflo® Max, 0,2 г/кг DM<br><br>Attenuzyme® Flex, 1,0 г/кг DM | OndeaPro®, 2,0 г/кг DM | OndeaPro®, 2,0 г/кг DM | Ultraflo® Max, 0,08 г/кг DM<br><br>Attenuzyme® Core, 0,2 г/кг DM |

Ultraflo® Max, Attenuzyme® Flex, Attenuzyme® Core и OndeaPro® доступны от компании Novozymes, Дания. Согласно изготовителю:

- Ultraflo® Max включает в себя β-глюканазу (700 EGU/г) и ксиланазу (250 FXU/г);
- Attenuzyme® Flex включает в себя глюкоамилазу (400 AGU/г) и пуллуланазу (80 PUN/г) согласно информации о продукте от изготовителя;
- Attenuzyme® Core включает в себя глюкоамилазу (1600 AGU/г);
- OndeaPro® включает в себя β-глюканазу, ксиланазу, α-амилазу, пуллуланазу (637 PUN/г), протеазу и липазу.

При определении активности Attenuzyme® Flex, как описывается в примере 2, обнаружили, что использовали количество Attenuzyme® Flex, соответствующее 16243 миллиединиц активности конечной декстриназы ячменя на г раствора ферментов. Кроме того, обнаружили, что объединенная активность глюкоамилазы и α-амилазы составляла 628863 единицы на г раствора ферментов.

Холодное сусло собирали после стандартной фильтрации и кипячения сусла с хмелем, добавленным в начале кипячения.

Исходный экстракт доводили водопроводной водой до достижения конечного Плато (в %P) 11,5 после кипячения и испарения и цвет сусла регулировали до достижения цвета, аналогичного цвету эталонного пива.

*Сбраживание*

- Brewers Clarex® (доступный от DSM) добавляли в холодное сусло при 0,1 г/кг DM.
- Сусло инокулировали 8E6 клетками/мл дрожжей лагер (S. pastorianus).
- Инокулированное сусло аэрировали воздухом в течение 30 минут.
- Сбраживание проводили в безнапорном бродильном баке при 15°C до конца брожения.
- Закончившее бродить пиво выдерживали при 4°C до переноса в бак.

*Перенос в бак*

- Пиво с менее чем 5E5 клеток/мл в суспензии переносили в бак.
- Бак продували $CO_2$ до 0,5 бар перед заполнением и после заполнения.
- $CO_2$ добавляли до повышенного давления 0,5 бар и пиво выдерживали при 4°C до фильтрации.

*Фильтрация*

- Пиво фильтровали через три слоя листов пористого фильтра.

- Давление 1,2 бар $CO_2$ прикладывали к пиву в баке после фильтрации.
- Пиво выдерживали при 4°C до упаковки.

*Упаковка*

Пиво упаковывали в 33-мл бутылки и выдерживали при 4°C для окончательных тестов и органолептической оценки.

**Результаты анализов**

*Сахара в сусле до сбраживания*

Концентрацию всех сбраживаемых сахаров определяли, по сути, как описывается в примере 9, и результаты показаны в таблице 6. Содержание глюкозы заметно выше в обоих вариантах пива, полученных согласно способам в соответствии с настоящим изобретением (испытания 1 и 2), по сравнению с пивом, полученным из несоложенного ячменя (испытания 3 и 4).

**Таблица 6**

| | Испытание 1 | | Испытание 2 | | Испытание 3 | | Испытание 4 | | Эталон | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | г/100 г/%P сусло | % | г/100 г/%P сусло | % | г/100 г/%P сусло | % | г/100 г/%P сусло | % | г/100 г/%P сусло | % |
| **Сахароза** | 0,008 | 1,9 | 0,016 | 1,8 | 0,019 | 2,5 | 0,021 | 2,2 | 0,024 | 3,3 |
| **Глюкоза** | 0,202 | 47,4 | 0,497 | 56,3 | 0,054 | 7,1 | 0,046 | 4,8 | 0,333 | 46,1 |
| **Фруктоза** | 0,012 | 2,8 | 0,014 | 1,5 | 0 | 0,0 | 0,013 | | 0,016 | 2,2 |
| **Мальтоза** | 0,193 | 45,3 | 0,338 | 38,3 | 0,533 | 70,8 | 0,651 | 68,7 | 0,312 | 43,2 |
| **Мальтотриоза** | 0,011 | 2,6 | 0,017 | 1,9 | 0,147 | 19,5 | 0,217 | 22,9 | 0,037 | 5,1 |

*Свободный аминный азот и β-глюкан*

Концентрацию свободного аминного азота (FAN) в сусле перед брожением, а также в готовом пиве определяли согласно стандартному протоколу ThermoFisher, Gallary Beermaster, для FAN, калориметрический метод. Типичные значения свободного аминного азота (FAN) в сусле составляют 200 мг/л. FAN важен для хорошей жизнеспособности дрожжей в ходе брожения. Как правило, желательно содержание FAN, которое достаточно высоко для получения хорошей жизнеспособности дрожжей. Результаты для FAN в сусле перед брожением показаны в таблице 7a и в пиве в таблице 7b.

β-Глюкан обычно разлагается в ходе традиционного осолаживания. Слишком высокое содержание β-глюкана нежелательно, поскольку это может вызывать проблемы с фильтрацией. Содержание β-глюкана в сусле перед сбраживанием, а также в пиве определяли с использованием набора для «бета-глюкана (с высокой MW)» от компании Thermo Scientific в соответствии с инструкциями производителя, и результаты показаны в таблице 7a (сусло до сбраживания) и таблице 7b (пиво).

**Таблица 7a. Сусло до сбраживания**

| **мг/л** | **Испытание 1** | **Испытание 2** | **Испытание 3** | **Испытание 4** | **Эталон** |
|---|---|---|---|---|---|
| **FAN** | 265 | 177 | 104 | 118 | 219 |
| **бета-глюкан** | 143 | 107 | 86 | 151 | 73 |

**Таблица 7b. Пиво**

| **мг/л** | **Испытание 1** | **Испытание 2** | **Испытание 3** | **Испытание 4** | **Эталон** |
|---|---|---|---|---|---|
| **FAN** | 116 | 36 | 50 | 55 | 104 |
| **бета-глюкан** | 60 | 50 | 44 | 58 | 46 |

*Аминокислоты в сусле до сбраживания*

Концентрацию всех стандартных аминокислот в сусле до сбраживания определяли при помощи с использованием Waters AccQ*Tag Ultra, следуя описанной там процедуре. Результаты для аминокислот в сусле до сбраживания показаны в таблице 8.

В частности, важна концентрация валина до сбраживания. Чем больше валина присутствует в сусле, тем меньше вероятность образования «нежелательного диацетила» в ходе брожения, и, следовательно, продолжительнее время паузы DA. Концентрация валина в 5 раз больше (испытание 1) и в 2 раза больше (испытание 2), чем в сусле, полученном в соответствии с настоящим изобретением, по сравнению с испытанием 3.

**Таблица 8**

| **мг/л сусло** | **Испытание 1** | **Испытание 2** | **Испытание 3** | **Испытание 4** | **Эталон** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Гистидин** | 20 | 30 | 17 | 23 | 56 |
| **Аспарагин** | 119 | 82 | 77 | 100 | |
| **Серин** | 8 | 44 | 26 | 43 | 67 |

| мг/л сусло | Испытание 1 | Испытание 2 | Испытание 3 | Испытание 4 | Эталон |
|---|---|---|---|---|---|
| **Глутамин** | 79 | 45 | 10 | 16 | |
| **Аргинин** | 92 | 92 | 59 | 77 | 144 |
| **Глицин** | 58 | 34 | 18 | 21 | 36 |
| **Аспарагиновая кислота** | 9 | 54 | 45 | 53 | 79 |
| **Глутаминовая кислота** | 87 | 58 | 36 | 67 | 72 |
| **Треонин** | 81 | 44 | 26 | 33 | 77 |
| **Аланин** | 193 | 103 | 45 | 58 | 113 |
| **Пролин** | 317 | 105 | 38 | 70 | |
| **Цистеин** | 0 | 4 | 0 | 0 | |
| **Лизин** | 113 | 77 | 51 | 59 | 104 |
| **Тирозин** | 94 | 56 | 36 | 45 | 116 |
| **Метионин** | 37 | 24 | 17 | 21 | 42 |
| **Валин** | 153 | 71 | 31 | 50 | 132 |
| **Изолейцин** | 80 | 43 | 16 | 28 | 79 |
| **Лейцин** | 214 | 109 | 52 | 69 | 181 |
| **Фенилаланин** | 139 | 75 | 39 | 47 | 144 |
| **Триптофан** | 47 | 32 | 25 | 30 | |
| **Общие аминокислоты** | 1940 | 1182 | 664 | 907 | |

*Ключевые числа пивоварения и сбраживания*

Различные ключевые числа пивоварения и сбраживания определяли и сравнивали с эталоном. Результаты представлены в таблице 9. Следует отметить, что пиво, полученное способами в соответствии с настоящим изобретением, характеризовалось значительно более низким содержанием диацетила. Как правило, предпочтительно, чтобы содержание диацетила было насколько возможно низким.

**Таблица 9**

| | **Испытание 1** | **Испытание 2** | **Испытание 3** | **Испытание 4** | **Эталон** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Исходный экстракт, %P** | 11,4 | 11,5 | 11,7 | 11,5 | 10,1 |
| **RDF, %** | 70,8 | 70,5 | 74,9 | 72,5 | 70,3 |
| **pH** | 4,06 | 3,90 | 4,21 | 4,15 | 4,25 |
| **Спирт, объем. %** | 5,2 | 5,2 | 5,6 | 5,4 | 4,54 |
| **Цвет, единицы EBC** | 5,4 | 8,0 | 5,4 | 7,1 | 6,4 |
| **Горечь** | 14 | 14 | 16 | 18 | 16 |
| **Диацетил, части на миллиард** | 14 | 15 | 27 | 28 | 22 |
| **$SO_2$, мг/л** | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 |

**Оценивание органолептических свойств**

Все образцы пива, полученные как описывается в данном примере, подвергали оцениванию органолептических свойств. Общий показатель вкуса для всех этих образцов был приемлемым. Одним отличием между различными образцами пива было то, что пиво из испытания 3 характеризовалось показателем «заметно» для вкуса «мыльный, жирный, диацетил, маслянистый прогорклый», тогда как пиво из испытания 2 (полученное в соответствии с настоящим изобретением) характеризовалось показателем только «незначительно» для этого вкуса.

**Обобщение**

Проблемы будущей нехватки воды и энергии необходимо решать на основе принципов социальной, экономической и экологической ответственности. В этом отношении настоящее изобретение способствует долгосрочному стабильному развитию производства пива в отношении снижения использования воды и энергии. Путем исключения процесса традиционной сушки в печи вместе с прямым объединением замачивания, проращивания и воздушной паузы в процессе пивоварения применение

способов в соответствии с настоящим изобретением сильно снизит производственные и эксплуатационные затраты при производстве пива.

Настоящее изобретение может способствовать снижению производственных затрат и снижению экологической нагрузки при осолаживании и пивоварении во многих отношениях, включая:

- процессы замачивания и проращивания, которые на данный момент требуют нескольких суток для завершения, можно осуществлять намного быстрее,
- процессы замачивания и проращивания, которые можно выполнять в одной емкости в одном месте,
- традиционные стадии второго замачивания процесса осолаживания, которые можно исключить,
- процессы, которые могут характеризоваться сниженным потребление воды, например, до 40%,
- дорогостоящее нагревание для сушки солода в печи, которое можно исключить,
- дорогие транспортные затраты для перемещения солода из солодовни на пивоварню, которые можно исключить,
- оборудование и установка, требуемые для выполнения способов в соответствии с настоящим изобретением, которые могут соответствовать существующему оборудованию в пивоварнях и не будут, таким образом, требовать больших новых капиталовложений.

**Цитируемые литературные источники**

Briggs DE (1998) In: Malts and Malting. Blackie &, Professionals.

Fincher GB (2011) Biochemistry, Physiology and Genetics of Endosperm Mobilization in Germinated Barley Grain. In: Barley: Production, Improvements and Uses. Ed. Ullrich SE, Wiley-Blackwell, Chapter 14, pp 449-477.

Smith AM, Zeeman S.C, Smith SM (2005) Starch Degradation. Annual Review of Plant Biology 56: 73-98.

Taketa, S., Yuo, T., Tonooka, T., Tsumuraya, Y., Inagaki, Y., Haruyama, N., Larroque, O., and Jobling, S. A. (2011) Functional characterization of barley beta-glucan–less mutants demonstrates a unique role for CslF6 in (1,3;1,4)-β-D-glucan biosynthesis, J. Exp. Bot. 63, 381-392.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения водного экстракта зерновой культуры, при этом указанный способ предусматривает стадии:

a) обеспечения зерен зерновой культуры;

c) воздействия на зерна зерновой культуры стадии проращивания с получением тем самым пророщенных зерен;

d. подвергания пророщенных зерен стадии тепловой обработки при температуре в диапазоне от 35 до 55°C;

e. мелкого измельчения пророщенных зерен с получением тем самым размолотых пророщенных зерен, при этом указанные пророщенные зерна характеризуются содержанием воды по меньшей мере 20%, при условии, что указанные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 20% в любой момент времени между стадиями c) и e); и

f. получения водного экстракта указанных размолотых пророщенных зерен,

с получением тем самым водного экстракта зерновой культуры.

2. Способ по п. 1, при котором стадия проращивания включает в себя инкубирование указанных зерен в водном растворе до содержания воды в зернах по меньшей мере 30%, при этом по меньшей мере 2 л $O_2$ на кг сухой массы зерен зерновой культуры пропускают через указанный водный раствор в час.

3. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором стадия проращивания включает в себя

i. инкубирование указанных зерен в водном растворе на протяжении диапазона времени от 16 от 40 часов, при этом по меньшей мере 2 л $O_2$ на кг сухой массы зерен зерновой культуры пропускают через указанный водный раствор в час и при этом указанные зерна погружают в указанный водный раствор в ходе указанного инкубирования;

ii. удаление избытка водного раствора; и

iii. инкубирование влажных зерен на воздухе на протяжении диапазона времени от 20 до 50 часов при температуре в диапазоне от 15 до 30°C.

4. Способ получения водного экстракта зерновой культуры, при этом указанный способ предусматривает стадии:

a) обеспечения зерен зерновой культуры, при этом зерновая культура представляет собой обрушенную зерновую культуру;

b) обработки указанных зерен зерновой культуры с удалением оболочки, при этом указанная обработка приводит к потере по меньшей мере 2% общей массы указанных зерен зерновой культуры;

c) воздействия на зерна зерновой культуры стадии проращивания с получением тем самым пророщенных зерен, при этом указанная стадия проращивания включает в себя

i. инкубирование указанных зерен в водном растворе на протяжении диапазона времени от 16 от 40 часов, при этом по меньшей мере 2 л $O_2$ на кг сухой массы зерен зерновой культуры пропускают через указанный водный раствор в час и при этом указанные зерна погружают в указанный водный раствор в ходе указанного инкубирования;

ii. удаление избытка водного раствора; и

iii. инкубирование влажных зерен на воздухе на протяжении диапазона времени от 18 до 50 часов при температуре в диапазоне от 15 до 30°C;

d) мелкого измельчения пророщенных зерен с получением тем самым размолотых пророщенных зерен, при этом указанные пророщенные зерна характеризуются содержанием воды по меньшей мере 20%; при условии, что указанные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 20% в любой момент времени между стадиями c) и d); и

e) получения водного экстракта указанных размолотых пророщенных зерен,

с получением тем самым водного экстракта зерновой культуры.

5. Способ по любому из предыдущих пунктов, при этом способ предусматривает дополнительную стадию после стадии проращивания и перед стадией мелкого измельчения, при этом указанная дополнительная стадия включает в себя подвергание пророщенных зерен стадии тепловой обработки при температуре в диапазоне от 35 до 55°C.

6. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором стадию инкубирования влажных зерен на воздухе выполняют при потоке атмосферного воздуха в диапазоне от 85 до 95 л/час на кг сухих зерен зерновой культуры.

7. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором стадию инкубирование влажных зерен на воздухе выполняют при потоке $O_2$ в диапазоне от 17 до 21 л/час на кг сухих зерен зерновой культуры.

8. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором продолжительность стадии инкубирования указанных влажных зерен зерновой культуры в воздухе находится в диапазоне от 20 до 30 часов.

9. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором продолжительность тепловой обработки находится в диапазоне от 1 до 5 часов.

10. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором всю стадию проращивания (стадию с.) выполняют на протяжении диапазона времени от 44 до 72 часов.

11. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором стадию проращивания выполняют при температуре в диапазоне от 15 до 30°C.

12. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором удаление указанной оболочки приводит к потере в диапазоне от 2,5 до 7,5%, например, к потере в диапазоне от 3 до 6%, общей массы зерен зерновой культуры.

13. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором пророщенные зерна зерновой культуры характеризуются содержанием воды не менее 25%, еще более предпочтительно не менее 30%, еще более предпочтительно не менее 35% в любой момент времени от завершения стадии проращивания до момента времени мелкого измельчения указанных зерен зерновой культуры.

14. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором зерновая культура представляет собой ячмень.

15. Способ получения напитка, при этом указанный способ предусматривает стадии:

i. получения водного экстракта способом по любому из предыдущих пунктов;

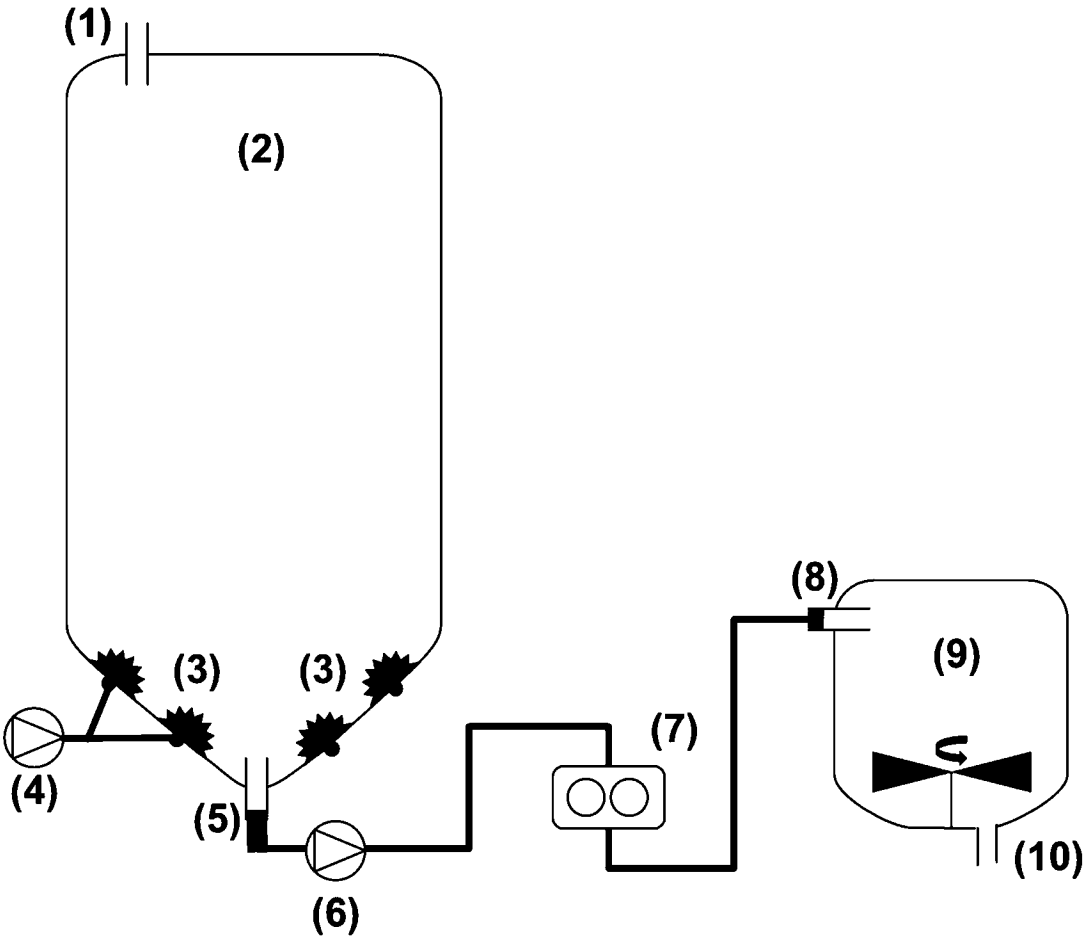
ii. переработки указанного экстракта в напиток.

16. Способ по любому из предыдущих пунктов, при этом способ не предусматривает стадию сушки в печи пророщенных зерен.

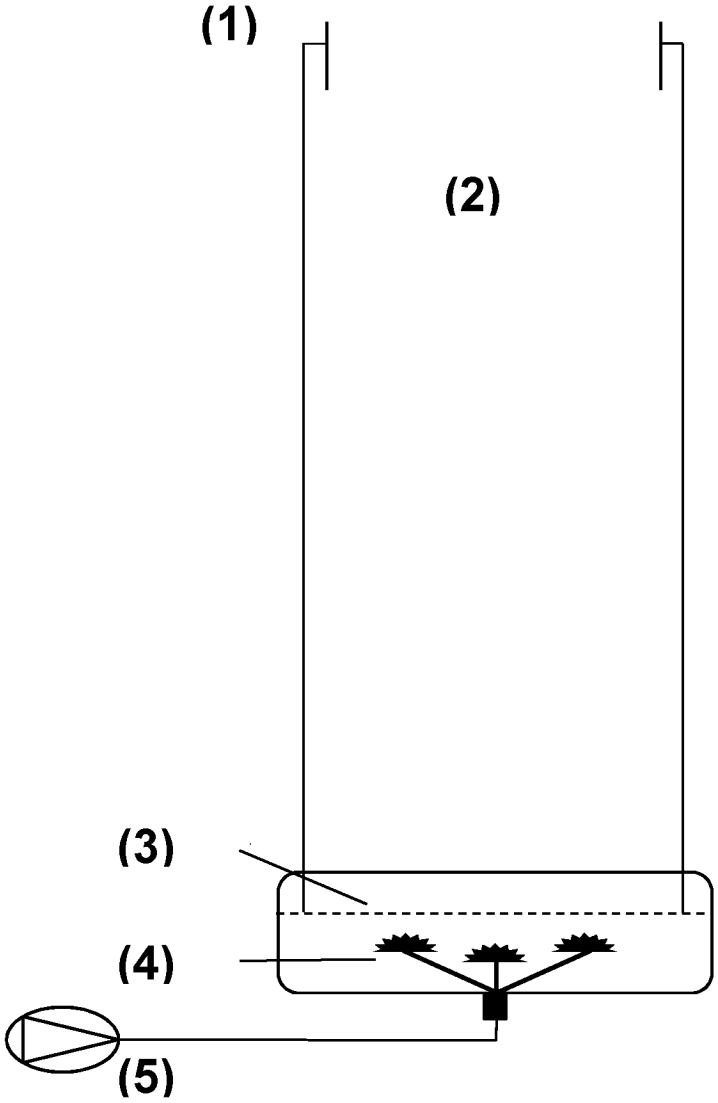
17. Способ по любому из предыдущих пунктов, при этом способ не предусматривает стадию удаления проростков.

18. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором пророщенные зерна содержат максимум 4 г проростков (в пересчете на сухое вещество) на 100 г пророщенных зерен зерновой культуры (в пересчете на сухое вещество).

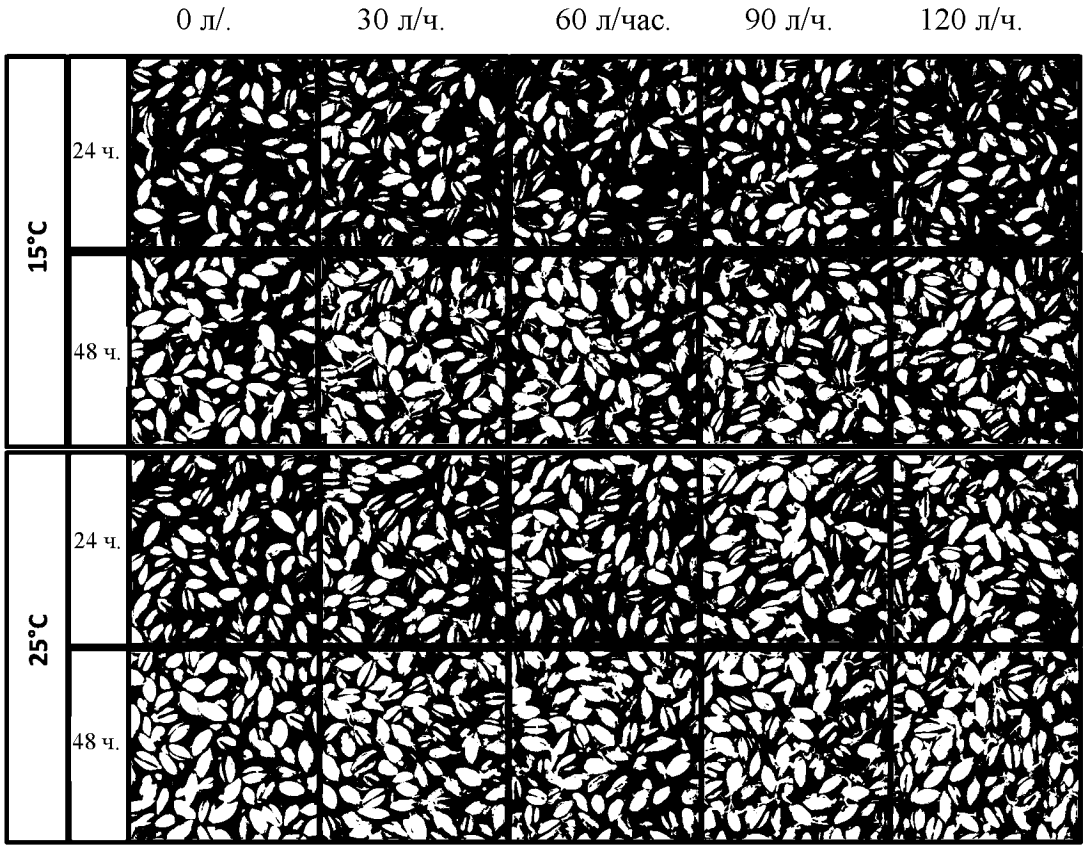
19. Способ по любому из предыдущих пунктов, при котором пророщенные зерна содержат максимум 2 г проростков (в пересчете на сухое вещество) на 100 г пророщенных зерен зерновой культуры (в пересчете на сухое вещество).



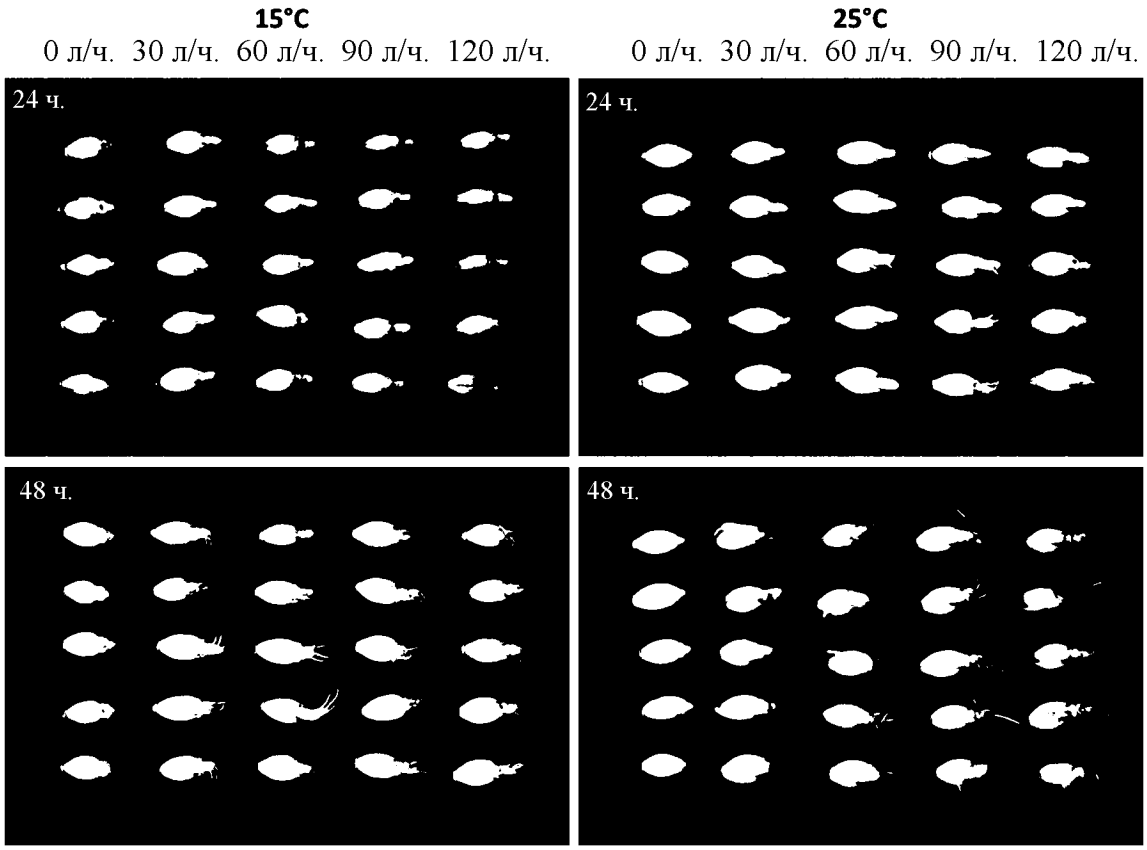

**Фиг. 1**



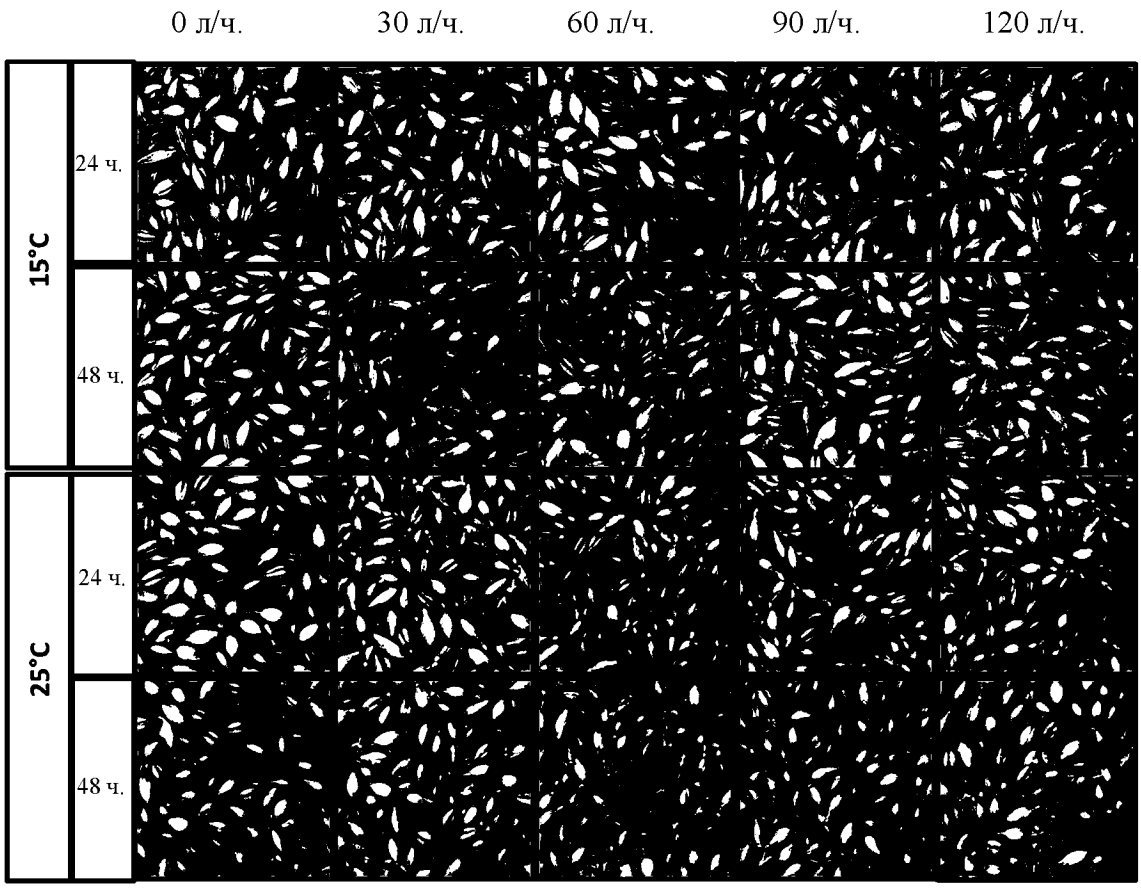

**Фиг. 2**



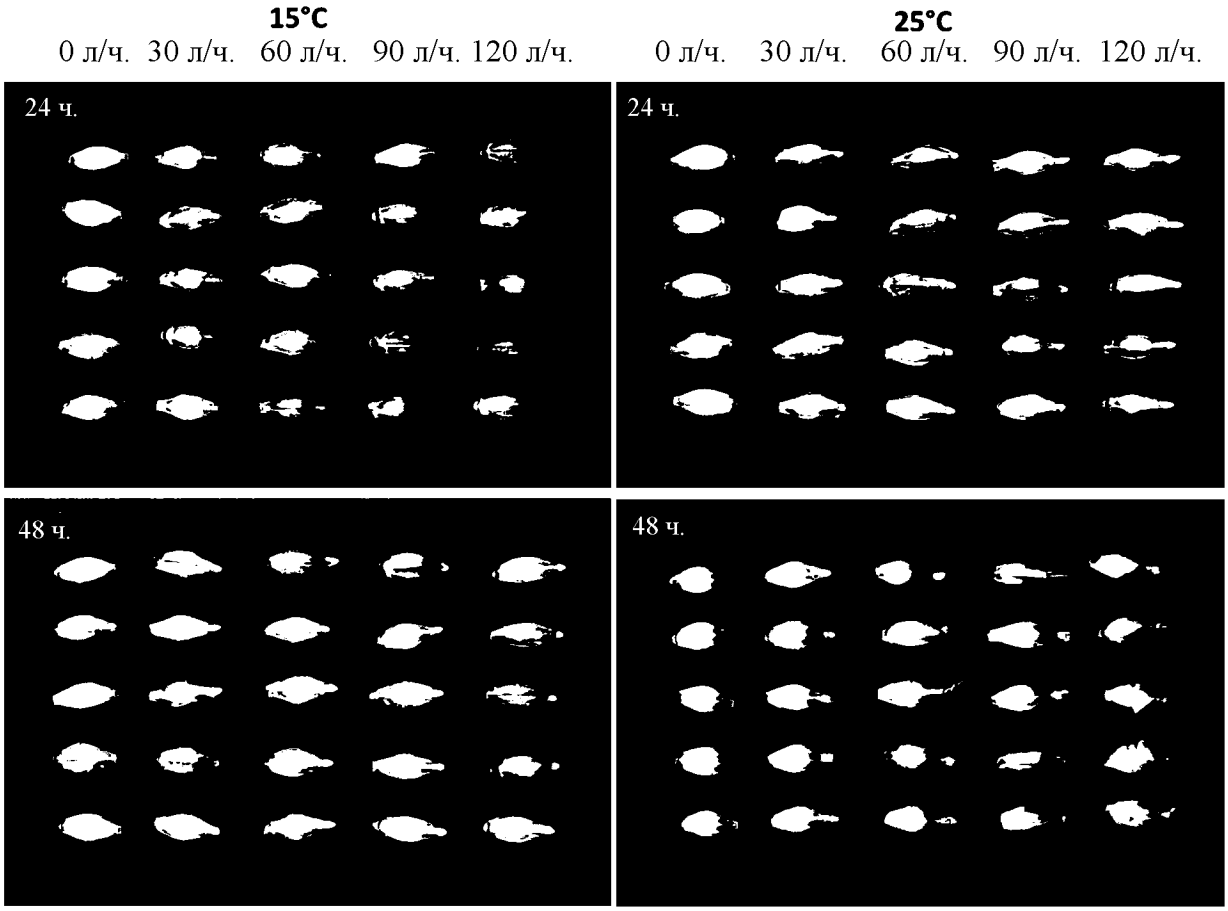

**Фиг. 3A**


15°C
0 л/ч. 30 л/ч. 60 л/ч. 90 л/ч. 120 л/ч.
25°C
0 л/ч. 30 л/ч. 60 л/ч. 90 л/ч. 120 л/ч.
24 ч.
24 ч.
48 ч.
48 ч.

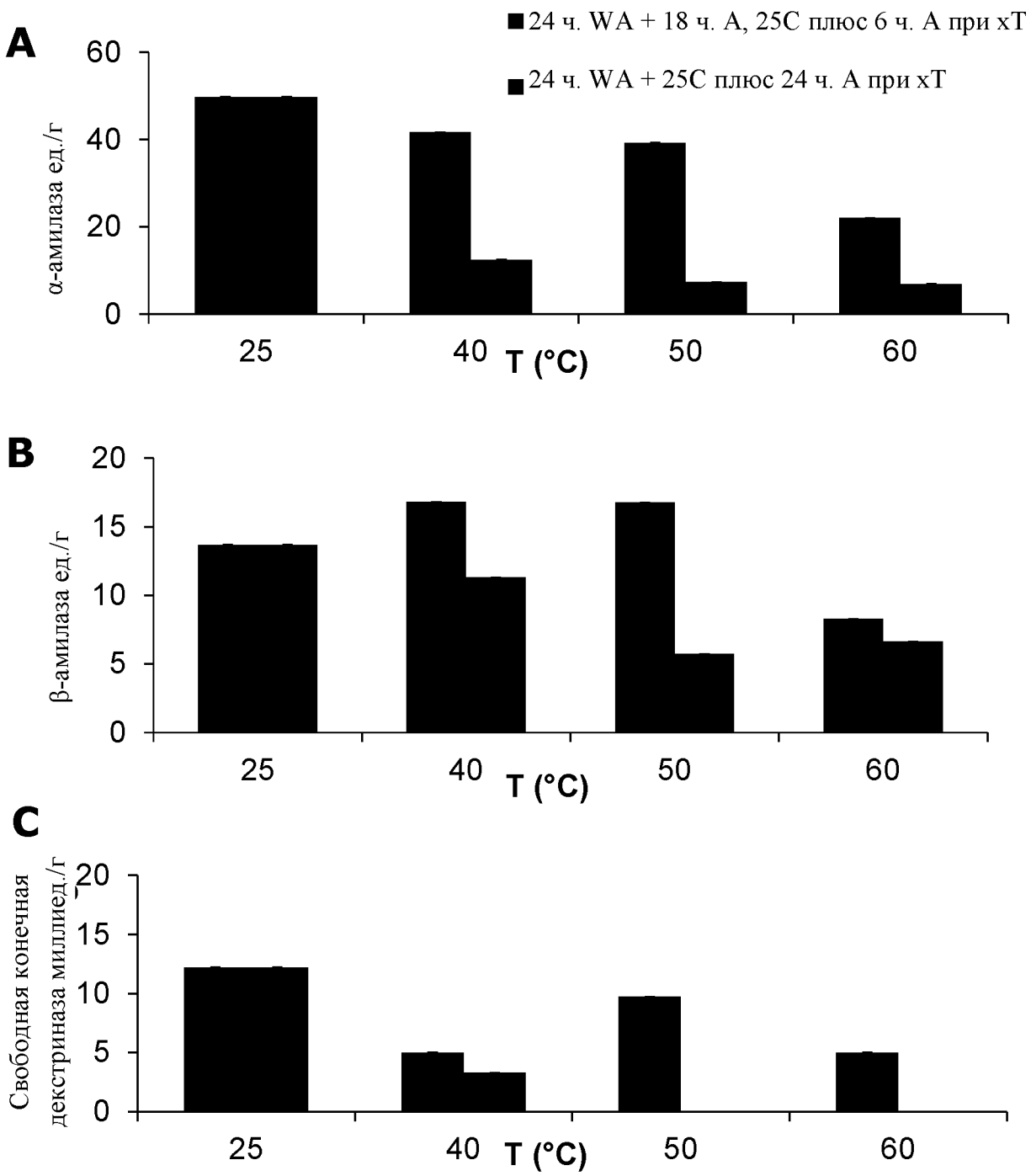
**Фиг. 3B**



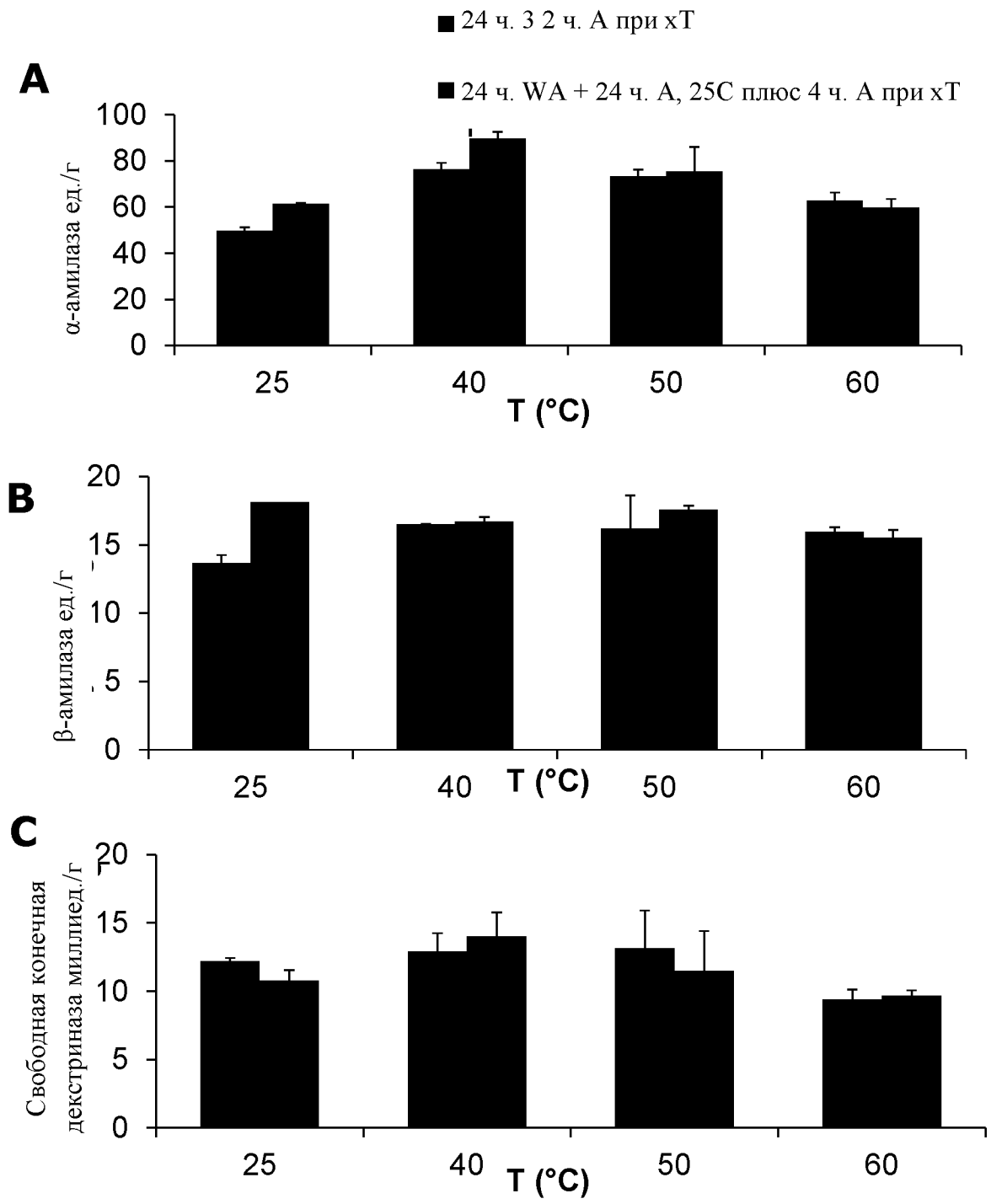

**Фиг. 4A**


15°C
0 л/ч. 30 л/ч. 60 л/ч. 90 л/ч. 120 л/ч.
25°C
0 л/ч. 30 л/ч. 60 л/ч. 90 л/ч. 120 л/ч.
24 ч.
24 ч.
48 ч.
48 ч.

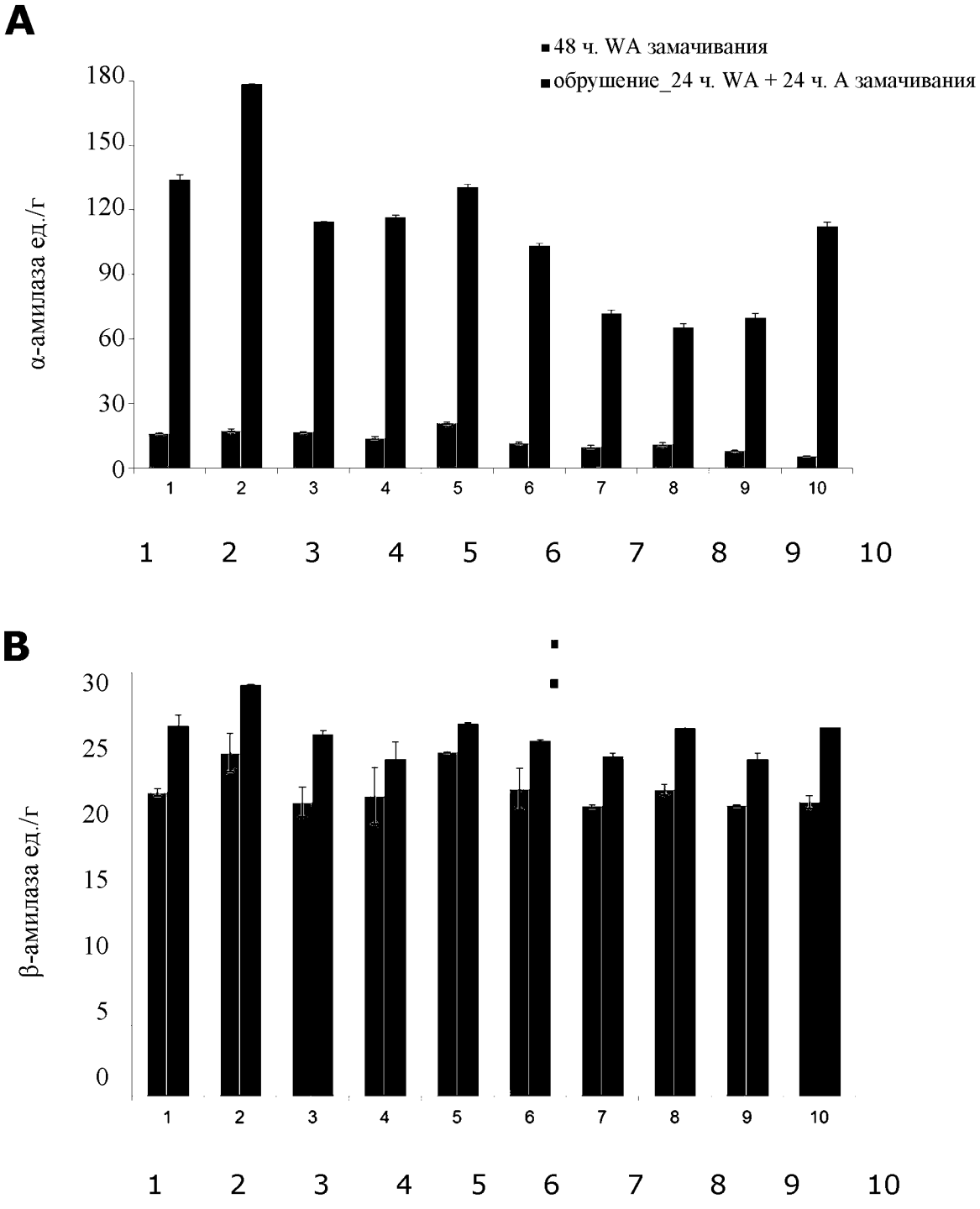
**Фиг. 4B**


A
24 ч. WA + 18 ч. A, 25C плюс 6 ч. A при xT
24 ч. WA + 25C плюс 24 ч. A при xT
α-амилаза ед./г
60
40
20
0
25
40
T (°C)
50
60
B
β-амилаза ед./г
20
15
10
5
0
25
40
T (°C)
50
60
C
Свободная конечная декстриназа миллиед./г
20
15
10
5
0
25
40
T (°C)
50
60

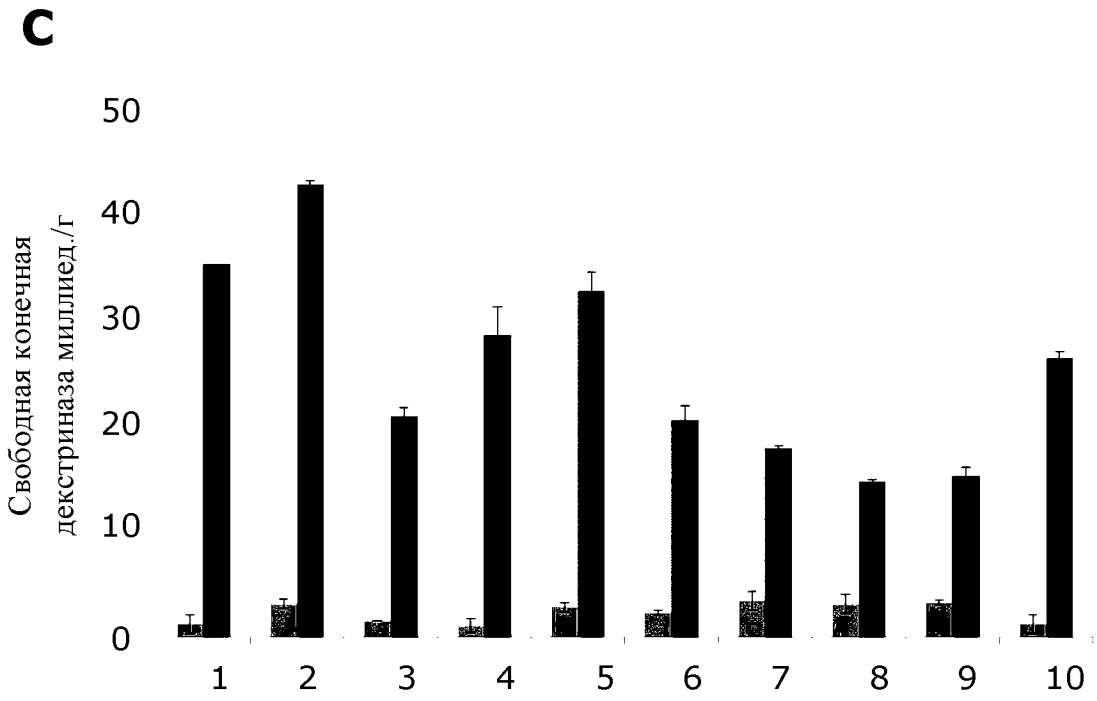
**Фиг. 5**


24 ч. 3 2 ч. А при хТ
24 ч. WA + 24 ч. А, 25С плюс 4 ч. А при хТ
A
α-амилаза ед./г
100
80
60
40
20
0
25
40
50
60
T (°C)
B
β-амилаза ед./г
20
15
10
5
0
25
40
T (°C)
50
60
C
Свободная конечная декстриназа миллиед./г
20
15
10
5
0
25
40
T (°C)
50
60

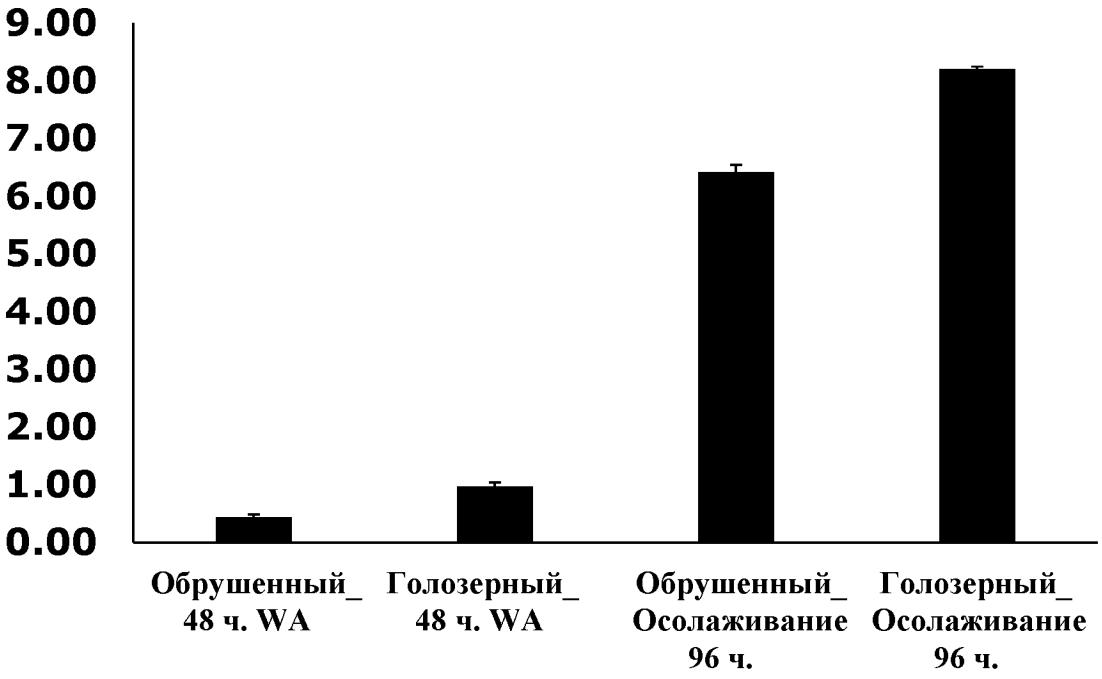
**Фиг. 6**


A
48 ч. WA замачивания
обрушение_24 ч. WA + 24 ч. A замачивания
α-амилаза ед./г
180
150
120
90
60
30
0
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
B
β-амилаза ед./г
30
25
20
15
10
5
0
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

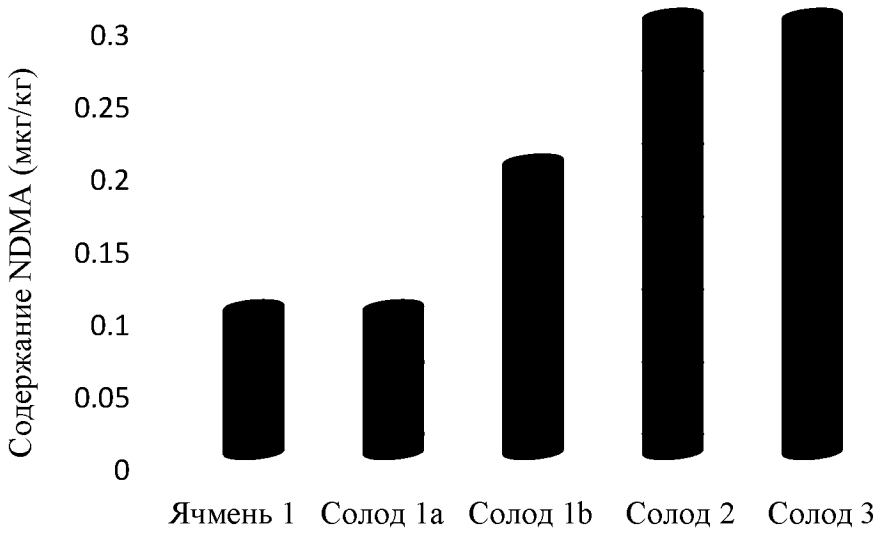
**Фиг. 7**



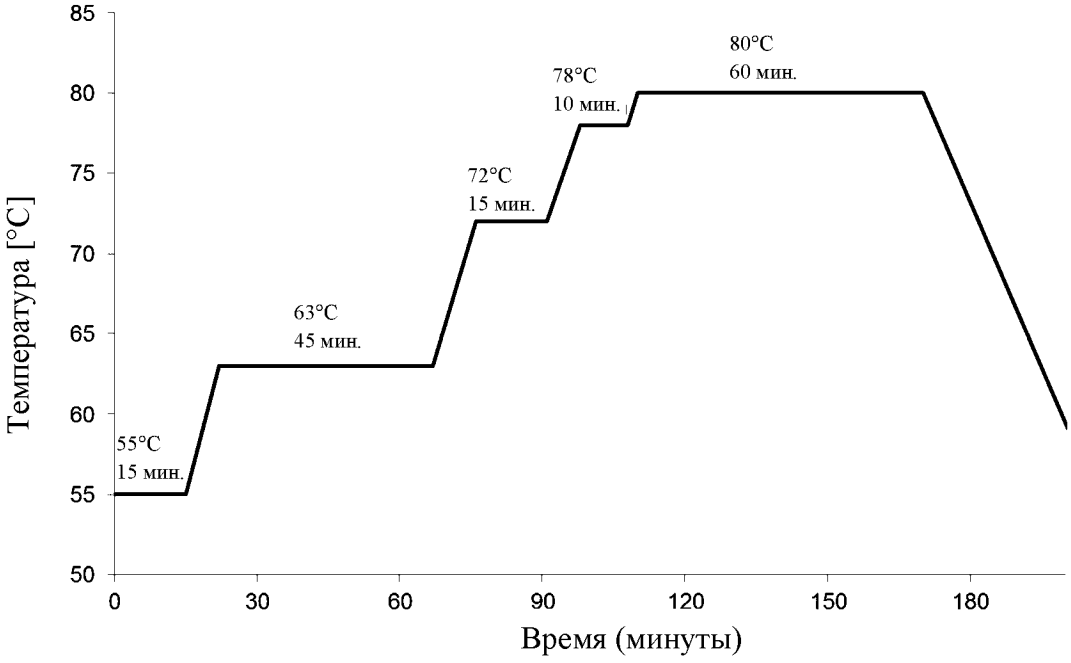

**Фиг. 7 продолжение**


9.00
8.00
7.00
6.00
5.00
4.00
3.00
2.00
1.00
0.00
Обрушенный_ 48 ч. WA
Голозерный_ 48 ч. WA
Обрушенный_ Осолаживание 96 ч.
Голозерный_ Осолаживание 96 ч.

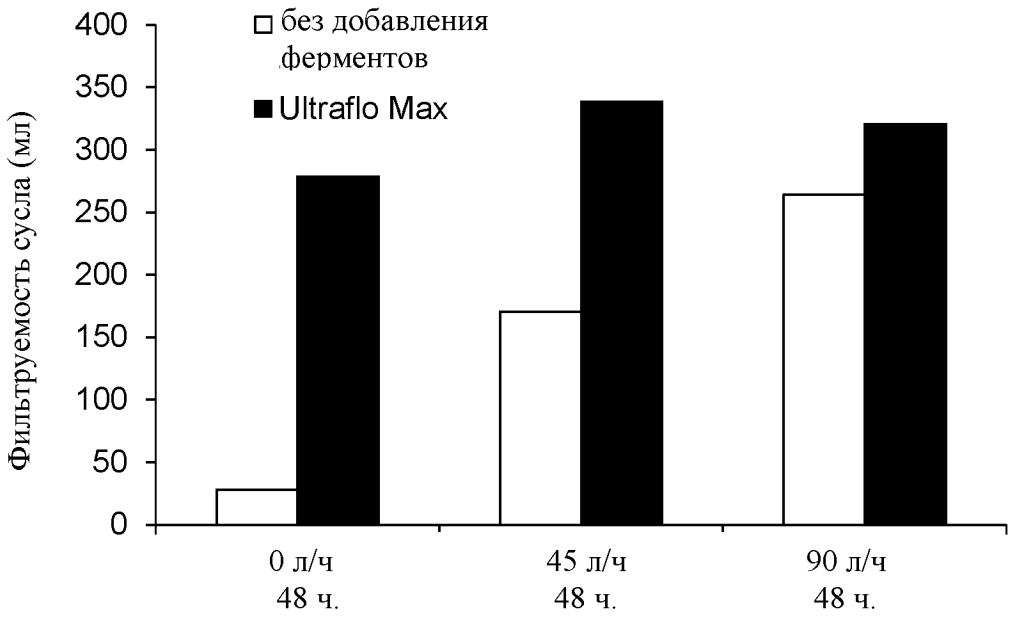
**Фиг. 8**


Содержание NDMA (мкг/кг)
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
Ячмень 1
Солод 1a
Солод 1b
Солод 2
Солод 3

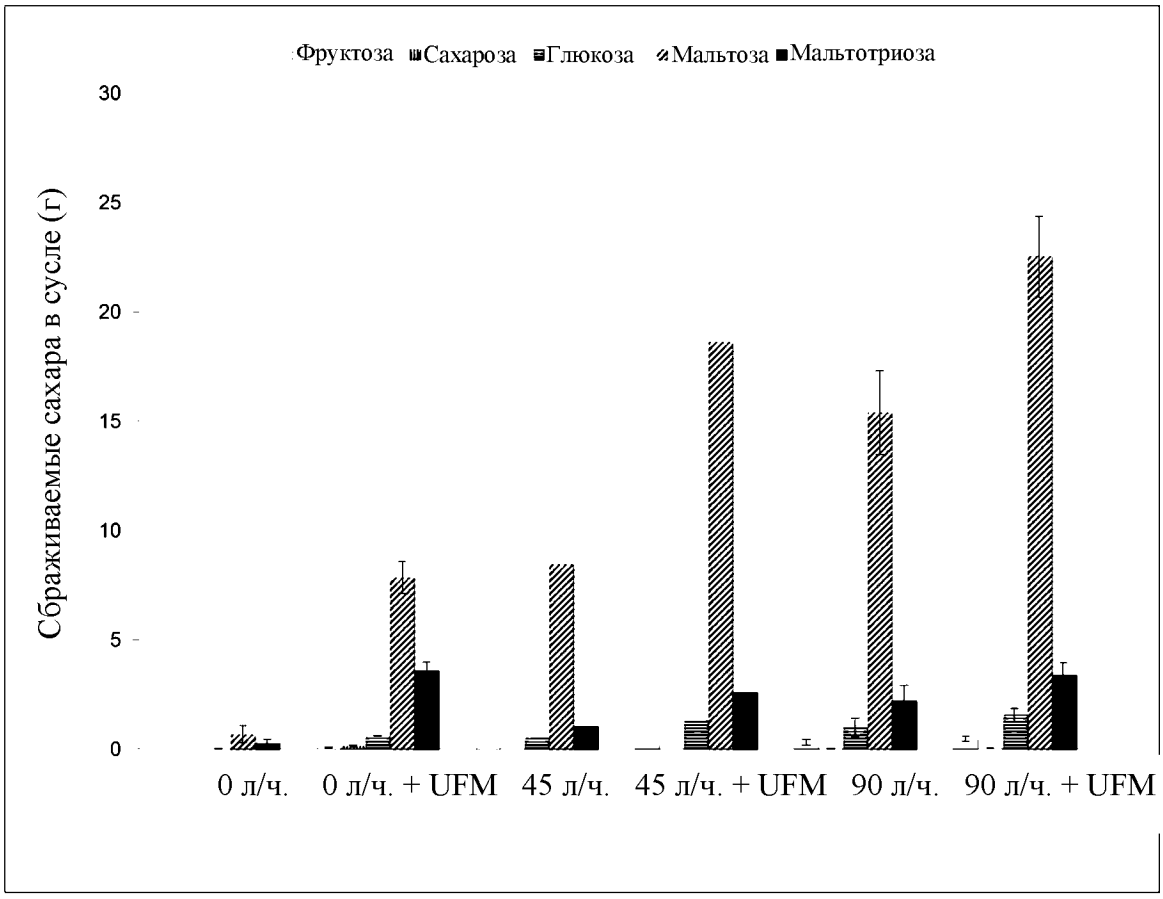
**Фиг. 9**


85
80
75
70
65
60
55
50
Температура [°C]
0
30
60
90
120
150
180
Время (минуты)
55°C
15 мин.
63°C
45 мин.
72°C
15 мин.
78°C
10 мин.
80°C
60 мин.

**Фиг. 10**


400
350
300
250
200
150
100
50
0
Фильтруемость сусла (мл)
без добавления ферментов
Ultraflo Max
0 л/ч 48 ч.
45 л/ч 48 ч.
90 л/ч 48 ч.

**Фиг. 11**


Фруктоза
Сахароза
Глюкоза
Мальтоза
Мальтотриоза
Сбраживаемые сахара в сусле (г)
30
25
20
15
10
5
0
0 л/ч.
0 л/ч. + UFM
45 л/ч.
45 л/ч. + UFM
90 л/ч.
90 л/ч. + UFM

**Фиг. 12**