

MINISTERIO DE INDUSTRIA
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

20 SET. 1978

ES

NUMERO
467748

A3

FECHA DE PRESENTACION



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la memoria adjunta.

CAS : 5-8491/E

PATENTE DE INTRODUCCION

467748

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL <i>e12c</i>
54 TITULO DE LA INVENCIÓN "PROCEDIMIENTO DE FABRICACION DE CERVEZA".	
56 PATENTE EXTRANJERA U OTRA FUENTE DE INFORMACION Patente Belga nº 806.393 de fecha: 23 de Octubre de 1973.	
71 SOLICITANTE (S) CIBA-GEIGY AG.	
DOMICILIO DEL SOLICITANTE BASILEA (Suiza)	
72 INVENTOR (ES)	
73 TITULAR (ES) CIBA-GEIGY AG.	
74 REPRESENTANTE D. JAIME ISERN CUYAS, Agente Oficial de la Propiedad Industrial.	

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención se refiere a un procedimiento de fabricación de cerveza que utiliza granos crudos asociados con aditivos constituidos por enzimas.

5. Se obtiene la cerveza por medio de fermentaciones de los mostos de cerveza que se preparan a partir de una malta. La fabricación de esta última estriba en la germinación (malteado) seguida de un secado de la cebada de cervecería a temperatura alta (secado a estufa) en
10. instalaciones equipadas especialmente para este fin (malteadoras). Solamente se pueden utilizar en cervecería las suertes de cebada que estén seleccionadas y cultivadas basándose en criterios determinados como, por ejemplo, una aptitud satisfactoria para la germinación y una calidad
15. elevada.

- Unicamente se pueden satisfacer estas condiciones recurriendo a medios agronómicos y tecnológicos considerables en forma de conocimientos y materiales, es decir, por medio de inversiones. La malta es, por consiguiente, un
20. material de partida relativamente costoso para la fabricación de cerveza.

- Por consiguiente, es urgente en cervecería reemplazar la malta, totalmente o en su mayor parte, con granos crudos que contienen en particular almidón y pro-
25. teínas. Normalmente las enzimas formadas al principio en la malta dirigen la transformación necesaria de las materias empleadas en el mosto para el proceso de obtención de la cerveza. No obstante, si la malta está totalmente ausente o falta la mayor parte de la misma, cuando tie-

ne lugar la transformación en mosto, se observa una grave insuficiencia de las actividades enzimáticas necesarias para transformar los granos crudos que se emplean en lugar de la malta, siendo esto obligado para el proceso de

5. la obtención de cerveza. Se puede compensar esta insuficiencia mediante la adición de enzimas extrañas procedentes del exterior.

Ya se han propuesto varios procedimientos que se basan en el empleo de enzimas de origen animal, vegetal

10. o microbiano. Teniendo en cuenta su manera de actuar, las amilasas y proteasas están en primer término, seguidas de las amiloglucosidasas y las beta-blucanasas.

Por medio de la bibliografía se conoce una serie de ejemplos de esta utilización de enzimas : entre éstos

15. se pueden citar : Allgem. Br. Hopf. Ztg. 73 (1933) 700; W.F. Br. 56 (1939) 161; Stärke 3 (1951) 155 - 159; Brauwelt 37 (1952) 863; Petit, J. Brasseur 65 (1957); Fermentatio (1958) 99-126; patente GB 513 455 (1939); patente canadiense 634 865 (1962), patente belga 753 174 (1970) y

20. patente belga 754 132 (1970).

Estas proposiciones conocidas que se han descrito hasta hoy día en la literatura, solamente han resuelto los problemas mencionados de un modo parcial, dado que las enzimas recomendadas como aditivos, no permiten adaptar

25. adecuadamente las actividades de las enzimas sobre los diversos granos utilizados. La causa es, por una parte, que estas preparaciones de enzimas poseen diversas actividades enzimáticas con acciones específicas diferentes, de modo que las fases de actuación de las enzimas que diri

- gón el proceso de obtención de la cerveza, no pueden regularse en función del substrato de la manera que se desea. Por otra parte, la capacidad para repetir los procedimientos conocidos actualmente para la fabricación de cerveza
5. con la ayuda de enzimas, es insuficiente por el hecho de que estos preparados de enzimas de origen microbiano, recomendados en la actualidad para esta finalidad, no poseen una acción específica constante y perfectamente repetible. Estas preparaciones de enzimas presentan, por
 10. el contrario, actividades diferentes y a menudo deficientes, debido a la existencia de cepas microbianas productoras de enzimas utilizadas para su producción, que están mal definidas. Desde este punto de vista, se puede observar que hasta las preparaciones que contienen enzimas con
 15. actividades diferentes, por ejemplo proteasas y amilasas, son poco adecuadas para su utilización en la fabricación de cerveza, supuesto que sus diversas actividades separadas no pueden valorarse aisladamente y, por consiguiente, no se pueden adaptar completamente a ciertas condiciones
 20. los cálculos de cada operación de cervecería, que dependen en gran medida, entre otras, de la naturaleza y cantidad de los granos crudos añadidos. Por consiguiente, cuando se emplean las preparaciones de enzimas utilizadas hasta la fecha, es imposible una regulación verdaderamente
 25. repetible del equilibrio óptimo entre la sacarificación y la proteólisis, que determina el desarrollo que se pretende del proceso de obtención de la cerveza. Para la labor moderna de cervecería, de carácter industrial y técnico, las mencionadas insuficiencias consti-

tuyen, en consecuencia, un grave inconveniente para la preparación de una cerveza de calidad selecta y también para la fabricación económica de la citada cerveza.

- La presente invención propone un procedimiento
5. de fabricación de cerveza partiendo de granos crudos y utilizando enzimas adicionales, empleando en el mismo por lo menos una enzima elegida entre el conjunto que comprende: una proteasa preparada a partir del *Aspergillus melleus* IAM 2066, una proteasa obtenida a partir del *Rhizopus niveus* IAM 6035, otra proteasa obtenida a partir del *Aspergillus niger* IAM 2020, alfa-amilasa preparada a partir del *Bacillus subtilis* nº 24 ATCC 21 813; una glucoamilasa preparada a partir del *Rhizopus nodosus* FER -P 1635
 10. y una beta-glucanasa preparada partiendo del *Bacillus subtilis* nº 24 ATCC 21 813.
 - 15.

- Gracias a esta invención, cuando tiene lugar una transformación enzimática de las materias contenidas en los granos crudos, se alcanza un equilibrio esencialmente ventajoso y repetible entre sacarificación y proteólisis, pudiéndose mantener este equilibrio merced a la posibilidad de valorar separadamente las diversas enzimas, incluso en el caso de las materias a granel las cuales contienen diversos ingredientes constituidos por granos crudos. Operando de este modo, las proteínas contenidas
20. en los granos crudos se degradan en fragmentos de moléculas que son necesarios para realizar optimamente el proceso de obtención de la cerveza y desarrollar las características favorables de la cerveza. Además es sorprendente que pueda disponerse de una proporción relativamente importan-
 - 25.

- te de las proteínas de los granos crudos, a causa de la degradación proteolítica que ha tenido lugar, para el proceso de obtención de cerveza. Desde este punto de vista, desempeñan un papel importante especialmente las cantidades de amino-ácidos liberadas; que están bien determinadas, así como su número, el tamaño de las moléculas y las características polares de los polipéptidos formados. Los amino-ácidos que estas condiciones pasan a ser activos, son muy convenientes para actuar favorablemente sobre el
10. metabolismo de la levadura empleada, en el sentido de lograrse una fermentación rápida y sin inconvenientes inesperados en el mosto, siendo asimilados los diversos amino-ácidos, más o menos activamente, por la levadura. Según J.S. Mac William (J. Inst. Brew, 74 (1968) 38) - se pueden clasificar estos ácidos aminados en tres grupos, desde el punto de vista de su velocidad de adsorción y, en consecuencia, según su importancia biológica para la fermentación. Gracias a las proteasas propuestas en la invención, en estas condiciones se liberan los amino-ácidos
 20. preferidos a partir de las proteínas de los granos crudos. De conformidad con lo que antecede, se impide en gran parte la formación de dicetonas vecinales y de ciertos compuestos alcohólicos que son molestos en las cervezas producidas de esta manera. Los polipéptidos formados favorecen
 25. francamente la formación y estabilidad de la espuma, así como la estabilidad coloidal de la cerveza. Contrariamente, las proteínas responsables de las alteraciones por el frío se degradan mucho, hasta el punto que se obtiene una buena estabilidad de conservación. Gracias

- a la acción de las alfa-amilasas propuestas en la invención, puede llevarse a cabo muy fácilmente la sacarificación del almidón contenido en los granos crudos, medida por la aparición de la neutralidad frente al yodo, obteniéndose consecuentemente valores de las cantidades correspondientes al extracto de mosto, que son muy favorables. No obstante, se mantiene una concentración de dextrinas suficiente para la estabilidad de la espuma. La glucoamilasa propuesta en la invención actúa al mismo tiempo que la alfa-amilasa, de manera que se obtiene una sacarificación rápida de los granos crudos y, por consiguiente, una elevación general del coeficiente de fermentación, hasta en presencia de fracciones de almidón difícilmente transformables en los granos crudos y en condiciones de aglutinación desfavorables. Además, la glucoamilasa es particularmente importante cuando los granos crudos empleados contengan otros glúcidos a base de glucosa, además del almidón. Gracias a la utilización, de conformidad con la invención, de la beta-glucanasa propuesta, se puede realizar la clarificación del mosto (siempre molesta) en muy poco tiempo. Igualmente se facilita considerablemente la filtración de la cerveza. El empleo simultáneo de las enzimas propuestas en la invención, permite asimismo a las fábricas de cerveza que utilizan los procedimientos clásicos, fabricar cerveza de buena calidad partiendo de granos crudos, en condiciones económicamente ventajosas.

El empleo de las enzimas de la invención, permite ejecutar sin dificultades una fabricación corrien-

te de cerveza. Entre los granos crudos que se pueden emplear, citamos la cebada forrajera, arroz, arroz partido, sémola de arroz, maíz, sémola de maíz, copos de maíz o de otros cereales, así como diversas materias primas que contienen almidón y proteínas. La proporción de productos a granel en los granos empleados para la preparación del mosto, puede oscilar entre el 20 y 100 %. Mientras tiene lugar la operación de cocción, se realiza la transformación enzimática de los granos crudos en la primera fracción (cuba de granos crudos), del mismo modo que en la fracción residual.

Las concentraciones en % (ponderales) de las enzimas que se adicionan al mosto, se refieren al conjunto de granos crudos y materias a granel. Varían con las proporciones de granos crudos empleados en el mosto.

Concentraciones de enzimas.

I intervalo general de utilización

II intervalo preferido de utilización

20.	Proporción de granos crudos	Proteasa	-amilasa	Glicoamilasa	-glucanasa
	20%	0,004%	0,004%	0,004%	0,004%
I	100%	5,0%	5,0%	5,0%	5,0%
	20%	0,004%	0,005%	0,004%	0,005%
25. II	100%	0,7%	7,0%	0,7%	1,0%

Se añaden las enzimas, después del remojado y molido de los granos crudos, cuando se coloca el mosto. En estas condiciones, la temperatura del mosto está com-

prendida entre 40 y 50° C.

El ejemplo único, no limitativo, que sigue sirve para ilustrar la invención. Salvo en el caso de que se indique lo contrario, las proporciones y porcentajes

5. están expresados en peso.

EJEMPLO UNICO.

- Se ponen en remojo 9,6 kg de cebada forrajera (contenido de proteínas 11,1 %, humedad 13,7 % y cantidad de extracto 63,0 %) y 6 kg de malta (contenido de proteínas 11,2 %, humedad 4,9 % y cantidad de extracto 75,5%
10. en 45 litros de agua para humedecer, seguidamente se muele todo y se diluye con agua a la temperatura de 45°C, de modo que el volumen total de mosto sea de 75 litros. El pH es 5,65. Se extraen 26 litros de esta mezcla, como
15. primera fracción, y se mezclan con 5,8 kg de sémola de maíz (contenido de proteínas 9,1 %; humedad 13,7 % y cantidad de extracto 78,6 %). Se añaden a la primera fracción del mosto, a 45°C, 3,0 g de alfa-amilasa y 3,0 g de beta-glucanasa, y a la fracción residual del mosto 7,5 g
20. de proteasa, 3,0 g de alfa-amilasa, 7,5 g de glucoamilasa y 3,0 g de beta-glucanasa.

- Una vez terminada dicha adición, se calienta la primera fracción a 80°C, agitando durante 23 min., se sigue agitando durante 10 min. a esta temperatura y,
25. seguidamente, se calienta todo a 100°C durante 14 min. y mantiene esta temperatura durante 15 min. A continuación se mezcla (en una cuba para mostos) la fracción residual del mosto, que se agita durante este tiempo a la temperatura de 45°C. con la primera fracción del mosto

a la temperatura de 63°C. Esta operación dura 60 minutos. Durante dicho período de tiempo empieza una enérgica reacción de sacarificación. Para completarla se eleva la temperatura a 60°C, en dos etapas, y se agita la mezcla a dicha temperatura hasta la aparición de neutralidad frente al yodo. La duración total de la transformación en mosto es de 175 minutos.

Las fases siguientes del procedimiento, como la preparación del primer mosto, cocción del mosto, lupulización, preparación del mosto viscoso, fermentación para su transformación en cerveza y maduración complementaria, se desarrollan de conformidad con las normas establecidas de carácter técnico en cervecería. Como ejemplo para comparar, se ha realizado una preparación semejante en las mismas condiciones técnicas (referentes a la fabricación de cerveza) que en el ejemplo anterior, con malta de buena calidad en lugar de los granos crudos utilizados en el ejemplo que nos ocupa.

Apreciación de mostos.

20. I Calderada de granos crudos con el empleo de las enzimas propuestas, de conformidad con la invención.

II Calderada de malta.

	I	II
viscosidad del primer mosto	escasa	normal
25. rendimiento del mosto	muy grande	grande
fermentación final de los mostos viscosos	muy intensa	muy intensa
contenido de nitrógeno de los alfa-amino-ácidos	muy grande	grande

	I	II
contenido de nitrógeno total	muy grande	normal
Lundine A	escasa	normal
Lundine B	normal	normal
5. Lundine C	grande	normal
contenido de antocianógenos	ventajoso	normal
rendimiento de substancias amargas	grande	normal
marcha de la fermentación	rápida	normal

10. El rendimiento cuantitativo de amino-ácidos liberados por medio de la proteólisis, durante la preparación del mosto, es francamente superior en la calderada de granos crudos (ver también Lundine C). Además, en este caso, las concentraciones de amino-ácidos importantes, en lo que se refiere al comportamiento de la levadura añadida, son ventajosamente muy superiores a las concentraciones correspondientes al caso de la calderada de malta.
- 15.

= . =

20. REIVINDICACIONES

Descrito el objeto del presente invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones.

1. Procedimiento de fabricación de cerveza, que comprende el empleo de granos crudos y la adición de enzimas, caracterizado porque en el proceso participa por lo menos una enzima elegida entre el grupo siguiente: proteasa preparada a partir del *Aspergillus melleus* IAM
- 25.

2066, proteasa preparada a partir del *Rhizopus niveus* IAM 6035, proteasa preparada a partir del *Aspergillus niger* IAM 2020, alfa-amilasa preparada a partir del *Bacillus subtilis* nº 24 ATCC 21 813, glucoamilasa preparada a partir del *Rhizopus nodosus* FER-P 1635 y beta-gluconasa preparada partiendo del *Bacillus subtilis* nº ATCC 21 813.

2. Procedimiento de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque, durante la preparación del mosto, participa por lo menos una proteasa preparada a partir del *Aspergillus melleus* IAM 2066, del *Rhizopus niveus* IAM 6035 ó del *Aspergillus niger* IAM 2020, asociada a una alfa-amilasa que se prepara partiendo del *Bacillus subtilis* nº 24 ATCC 21 813, una glucoamilasa preparada a partir del *Rhizopus nodosus* FER-P 1635 y una beta-gluconasa preparada partiendo del *Bacillus subtilis* nº 24 ATCC 21 813.

3. Procedimiento de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado por el hecho de que en el proceso participa cada enzima en una proporción que está comprendida entre 0,004 y el 5% en peso, respecto a los granos crudos contenidos en el mosto.

4. Procedimiento de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque más selectivamente la participación de cada enzima en el proceso, respecto al peso de granos crudos contenidos en el mosto, es respectivamente un 0,004 a 0,7% en peso de proteasa, 0,005 al 1% en peso de alfa-amilasa, 0,004 al 0,7% en peso de glucoamilasa y 0,005 a: 1% en peso de beta-gluconasa.

5. Procedimiento de conformidad con la reivin-

dicación 1, caracterizado porque para su realización se utiliza como materia prima un mosto cuyo pH está comprendido entre 3 y 6,5.

6. Procedimiento de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque se emplea como materia prima un mosto cuya temperatura está comprendida entre 20 y 95°C.

7. Procedimiento de fabricación de cerveza.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 13 páginas foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, a 10 MAR. 1978

p. a.

p. p. JAIME ISERN

Firmado: JOSE F. NIETO