



УКРАЇНА

(19) UA (11) 84549 (13) C2
(51) МПК
C08B 37/06 (2008.01)
A23L 1/0524 (2008.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) СПОСІБ ОБРОБКИ РОСЛИННОГО МАТЕРІАЛУ, ЩО МІСТИТЬ ПЕКТИН

1

2

(21) а200501925

(22) 02.09.2003

(24) 10.11.2008

(86) PCT/DK2003/000570, 02.09.2003

(31) PA 2002 01280

(32) 02.09.2002

(33) DK

(46) 10.11.2008, Бюл.№ 21, 2008 р.

(72) КРИСТЕНСЕН ЯН О СТАУНСТРУП

(73) КП КЕЛЬКО АПС

(56) US A 5656734, 12.08.1997

GB A 474475, 11.02.1937

WO A 9910384, 04.03.1999

WO A 0039168, 06.07.2000

US B1 6261626, 17.07.2001

GB A 302734, 22.04.1930

US A 2165902, 11.07.1939

GB A 565700, 23.11.1944

WO A 9115517, 17.10.1991

(57) 1. Спосіб регулювання пектинестеразної активності у вихідному пектинвмісному рослинному матеріалі, де вказаний вихідний рослинний матеріал являє собою вихідний рослинний матеріал на основі фруктів, перед екстракцією пектину із вказаного вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу, який включає етапи: одержання вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу, приведення в контакт вказаного вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу з підкисленою водою, що має значення рН від 3,2 до 3,9 при температурі $\leq 70^{\circ}\text{C}$, та відновлення обробленого вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу, якому підкислена вода має значення рН від 3,4 до 3,7.

3. Спосіб за пунктом 1, в якому підкислену воду підкислюють при використанні неорганічної або органічної кислоти.

4. Спосіб за пунктом 1, в якому підкислену воду підкислюють при використанні неорганічної кислоти, вибраної з соляної кислоти, сірчаної кислоти, діоксиду сірки та азотної кислоти.

5. Спосіб за пунктом 1, в якому підкислену воду підкислюють при використанні органічної кислоти, вибраної з групи, яка складається з лимонної кислоти, щавлевої кислоти та оцтової кислоти.

6. Спосіб за пунктом 1, в якому підкислену воду підкислюють при використанні буферної системи,

що здатна до підтримання значення рН підкисленої води в межах від 3,2 до 3,9.

7. Спосіб за пунктом 5, в якому буферний розчин здатний до підтримання значення рН підкисленої води у межах інтервалу від 3,4 до 3,7.

8. Спосіб за пунктом 6, в якому буферну систему вибирають з групи, що включає соляну кислоту/гідроцитрат динатрію, гліцин/соляну кислоту, гідрофталат калію/соляну кислоту, лимонну кислоту/цитрат натрію та ацетат натрію/оцтову кислоту.

9. Спосіб за пунктом 1, в якому вказаний вихідний пектинвмісний рослинний матеріал піддають контакту з підкисленою водою при температурі $\leq 50^{\circ}\text{C}$.

10. Спосіб за пунктом 9, в якому вказаний вихідний пектинвмісний рослинний матеріал піддають контакту з підкисленою водою при температурі $\leq 30^{\circ}\text{C}$.

11. Спосіб за пунктами 1-10, який додатково включає етап висушування обробленого вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу для одержання висушеного обробленого вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу.

12. Спосіб за пунктами 1-11, в якому вихідний пектинвмісний рослинний матеріал вибраний з групи, яка складається з плодів цитрусових та яблук.

13. Спосіб за пунктами 1-12, в якому вихідний пектинвмісний рослинний матеріал включає плоди цитрусових.

14. Спосіб за пунктом 13, в якому вихідний пектинвмісний рослинний матеріал включає апельсини.

15. Спосіб за пунктом 12, в якому вихідний пектинвмісний рослинний матеріал включає яблука.

16. Оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал, одержаний згідно з пунктами 1-15, для застосування при екстракції пектину.

17. Оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал згідно з пунктом 16, в якому оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал демонструє значення рН, нижче 4,5, при екстракції деіонізованою водою.

18. Оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал за пунктом 17, в якому оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал демонструє значення рН, нижче 4,0, при екстракції деіонізованою водою.

C2
(13)

84549
(11)

UA
(19)

19. Оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал за пунктом 18, в якому оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал демонструє значення рН в інтервалі від 4,0 до 3,5 при екстракції деіонізованою водою.
20. Оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал за пунктом 16, в якому оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал включає шкірку цитрусових.
21. Оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал за пунктом 20, в якому оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал включає висушену шкірку цитрусових.
22. Оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал за пунктом 21, в якому оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал включає висушену шкірку апельсинів.
23. Оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал, одержаний відповідно до пунктів 1-15, для використання як корму для тварин.
24. Оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал, одержаний відповідно до пунктів 1-15, для використання як інгредієнту продуктів харчування.
25. Пектин, який характеризується молекулярною вагою вказаного пектину, що є на 50% вищою за молекулярну вагу пектину, одержаного в результаті екстракції аналогічного, але необробленого вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу, одержаного шляхом екстракції з вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу, обробленого способом згідно з пунктами 1-15.

26. Пектин згідно з пунктом 25, який характеризується молекулярною вагою вказаного пектину, що є на 10-40% вищою, ніж молекулярна вага пектину, одержаного в результаті екстракції аналогічного, але необробленого вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу.
27. Пектин згідно з пунктом 26, який характеризується молекулярною вагою вказаного пектину, що є на 15-30% вищою, ніж молекулярна вага пектину, одержаного в результаті екстракції аналогічного, але необробленого вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу.
28. Пектин, який характеризується співвідношенням чутливості до кальцію вказаного пектину та чутливості до кальцію пектину, екстрагованого з аналогічного, але необробленого промитого вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу, у межах від 0,90 до 1,40, одержаного шляхом екстракції з вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу, обробленого способом згідно з пунктами 1-15.
29. Пектин згідно з пунктом 28, який характеризується співвідношенням чутливості до кальцію вказаного пектину та чутливості до кальцію пектину, екстрагованого з аналогічного, але необробленого вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу, у межах від 0,90 до 1,20.
30. Пектин згідно з пунктом 29, який характеризується співвідношенням чутливості до кальцію вказаного пектину та чутливості пектину, екстрагованого з аналогічного, але необробленого вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу, у межах від 0,90 до 1,10.

Даний винахід відноситься до удосконаленого способу обробки пектинвмісного вихідного матеріалу для зниження або усунення хімічних та/або ферментативних та/або мікробіологічних змін пектину у згаданому пектинвмісному вихідному матеріалі.

Пектин представляє собою полісахаридний комплекс, асоційований з клітинною стінкою рослин. Він складається з альфа 1-4 зв'язаного скелету полігалактуронової кислоти з вбудованими залишками рамнози та модифікованого бічними ланцюгами нейтральних цукрових компонентів, таких, як ацетил, метил та групи ферулової кислоти.

Бічні ланцюги нейтральних цукрів, що включають арабінан та арабіногалактани, приєднані до залишків рамнози у скелеті. Залишки рамнози мають тенденцію групуватися разом у скелеті. Таким чином, ця частина скелету з прикріпленими до цієї ділянки бічними ланцюгами називається ворсистю ділянкою, а решта скелету згідно з цим називається гладенькою ділянкою.

У [патенті США] Ni та ін. описує пектин як компонент клітинної стінки рослин. Клітинна стінка рослин розділена на три шари, проміжна ламелла, первинна та вторинна клітинна стінка. Проміжна ламелла є найбагатшою на пектин. Пектини виро-

бляються та відкладаються під час росту клітинної стінки. Особливо багато пектинів відкладається у м'яких клітинних тканинах в умовах швидкого росту та високого вмісту вологи. У клітинних стінках пектини присутні у формі комплексу кальцію. Втягнення кальцієвого поперечного зв'язування є важливим, оскільки хелатуючі агенти поліпшують вивільнення пектину з клітинних стінок, як було розкрито Nanji [Патент США №1,634,879] та Maciay [Патент США №2,375,376]. Згідно з [Dumitriu, S.: Polysaccharides, Structural diversity and functional versatility, Marcel Dekker, Inc., New York, 1998, 416-419], пектин використовується у ряді харчових продуктів.

Історично, пектин, в основному, використовувався як загуснювальний агент для джему або подібних до нього продуктів або у системах багатих на цукор зі смаком фруктів. Прикладами є традиційні джеми, джеми зі зниженим вмістом цукру, прозорі желе, кондитерські желе зі смаком фруктів, кондитерські желе без фруктового смаку, перетворювана під дією температури глазур для булочної промисловості, стійкі до дії температури джеми для булочної промисловості, покриття для використання у морозиві, фруктові препарати для йогурту.

Суттєва частина пектину зараз використовується для стабілізації молочних напоїв з низьким значенням рН, включаючи ферментовані напої та суміші фруктового соку та молока.

Залишки галактуранової кислоти у пектині є частково естерифікованими та присутні як метиловий естер. Ступінь естерифікації визначається як процент естерифікованих карбоксильних груп. Пектин зі ступенем естерифікації („DE”), вище 50%, називається високо естерифікованим метилом пектином („HM”) або високо естерифікованим пектином, а такий з DE нижчим, ніж 50%, називається низько естерифікованим метилом пектином („LM”) або низько естерифікованим пектином. Більшість пектинів, що містяться у рослинному матеріалі, такому, як фрукти, овочі та зелень, представляють собою HM пектини. Ацетатні групи можуть також утворюватися при атомі вуглецю-2 або -3 залишків галактуранової кислоти. Ступінь естерифікації оцтовою кислотою („DAs”) визначається як процент залишків галактуранової кислоти, що містять ацетатну естерну групу. Більшість природних пектинів мають низьке значення DAs, один виняток складає пектин цукрового буряка.

Пектини є розчинними у воді та нерозчинними у більшості органічних розчинників. Пектини з дуже низьким рівнем естерифікації метилом та пектинові кислоти використовуються для практичних цілей тільки у розчинній формі як солі калію або натрію.

Пектини є найбільш стабільними при значенні рН 3-4. При значенні рН, нижче 3, метоксильні та ацетильні групи та нейтральні цукрові бічні ланцюги видаляються. При підвищених температурах ці реакції прискорюються та відбувається відщеплення глюкозидних зв'язків у галактурановому скелеті. В нейтральних та лужних умовах групи метилового естеру піддаються омиленню та у полігалактурановому скелеті відбувається бета-видалення-розщеплення глюкозидних зв'язків на невідновлювальних кінцях метоксильованих залишків галактуранової кислоти. Ці реакції також проходять швидше при підвищених температурах. Пектинові кислоти та LM пектини є стійкими до нейтральних та лужних умов, оскільки немає груп метилового естеру або існує тільки обмежена кількість груп метилового естеру.

Згідно з [Kertesz, Z.I: The Pectic Substances, Interscience Publishers, Inc, New York, 1951], пектинові матеріали містяться в усіх рослинних тканинах. Проте економічно важливими є яблука, буряк, льон, грейпфрути, лимони, лайми, апельсини, картопля та соняшник. Пізніше було продемонстровано промислове застосування пектину з Aloe vera.

У [US 1,513,615] Leo розкриває ферментативний процес для розчинення протопектину. Він спостерігав, що пектаза не працює, коли присутня кислота. Згідно з цим він руйнував клітини фруктів шляхом приготування у воді, а потім додавав карбонат кальцію, а після цього додавав пектазу. Таким чином, Leo підвищував значення рН до точки, в якій пектаза є активною, для того, щоб уникнути застосування кислоти при подальшій екстракції.

У [патенті США №1,497,884] Jameson для вирішення проблеми встановив, що шкірка плодів

містить пектиназу, що видаляє метильні групи у пектині. Коли присутня пектиназа, то пектин втрачає метильні групи і це приводить до зниження здатності до гелеутворення. Він вирішив проблему шляхом попереднього зняття шкірки, а потім руйнування пектинази за допомогою нагрівання зрізаної шкірки безпосередньо до значення температури, нижче 100°C протягом не більше, ніж 10 хвилин.

У [US 1,654,131] Leo проводив інактивацію ферментів у шкірці шляхом обробки шкірки, розрізаної на шматочки або пластинки, сильним спиртом, таким, як 95% етанол. Таким чином, він вирішував проблему зниження здатності пектину до гелеутворення, коли шкірка висушується у присутності кислот та ферментів. Leo використовував той факт, що спирт денатурує білки, такі, як ферменти, але не використовував будь-якого впливу на ферменти шляхом зниження значення рН.

У [патенті US 2,020,572] Platt використовував той самий принцип, що й у [Патенті США №1,497,884], та обробляв тонко подрібнену шкірку температурою для того, щоб зруйнувати ферменти.

У [патенті US 2,165,902] Myers вирішив цю проблему тим, що висушування шкірки у при традиційному висушуванні не нагріває шкірку зі швидкістю, достатньою для інактивації ферментів. Він здійснює це шляхом вилужування подрібненої свіжої шкірки за допомогою розчину сульфату міді, підігрітого у достатньому ступені для інактивації пектинази.

У [патенті US 2,323,483] Myers інактивував ферменти у свіжій шкірці, шляхом промивання свіжої подрібненої шкірки у воді при температурі 90°C протягом 5 хвилин.

У [патенті US 2,358,430] Willaman розкриває процес ферментативної деестерифікації пектину. Він обробляв дисперсію пектину за допомогою пектази при значенні рН 6,0 та при температурі, яка є сприятливою для пектази. Ця температура складає 40-45°C, а після певного часу, протягом якого значення рН підтримувалося на рівні 6,0, реакцію зупиняли шляхом нагрівання до температури 70-80°C або шляхом зниження значення значення рН до 3-4, а потім шляхом нагрівання. Willaman для вирішення проблеми виходив з того, що традиційні способи для деестерифікації пектину, тобто у той самий здійснення лужної деестерифікації, приводять до зниження здатності одержаного деестерифікованого пектину до гелеутворення. Він здійснював це шляхом надання можливості ферментові пектазі здійснювати деестерифікацію ферменту.

У [патенті US 2,387,635] Bailey розкриває спосіб приготування рослинного пектинвмісного матеріалу для екстракції пектину. Спосіб передбачає видалення розчинних твердих складових перед екстракцією. Спосіб включає етапи доведення значення рН до 2,8-3,5, нагрівання матеріалу, що містить джерело пектину до приблизно 90°C протягом приблизно 10 хвилин, охолодження матеріалу до приблизно 37-40°C, додання та вирощування у цьому середовищі дріжджів, і таким чином, руйнування непектинових вуглеводних речовин,

доведення значення pH ферментованої маси до приблизно 2,9 та нагрівання та подальше відновлення пектину. За допомогою ферментації видаляють цукри та інші небажані розчинні тверді речовини.

У [GB A 453877] розкритий процес обробки рослинного матеріалу, що містить пектин. Рослинний матеріал обробляють органічною або неорганічною кислотою перед екстракцією пектину без порушення гелеутворювальної здатності пектину. Процедура приводить до зміни здатності до гелеутворення в одержаному пектині. Значення pH підтримують на рівні 0,1-2,5 під час обробки.

У [US 5,567,462] розкривається процедура для одержання пекто-целюлозної композиції, де подрібнена шкірка цитрусових або інший пектинвмісний матеріал обробляють підкисленим водним розчином для розчинення пектину. [US 5,567,462] розкриває застосування кислот, значення pH яких коливається в межах від 1 до 3,3, для розчинення пектину.

У [JP A 59-096105] розкрито спосіб для одержання пектину високої якості з високим виходом. У цьому способі розчин мінеральної кислоти у концентрації, принаймні, 0,01N (тобто, значення pH приблизно складає 0,3-2) розкривається як обмеження для розчинення пектину.

У [JP A 61-085402] описується спосіб одержання пектину високої якості з високим виходом шляхом приведення рослинного матеріалу, що містить сухий пектин, у контакт з кислотою при температурі нижче 10°C перед проведенням екстракції. Розкриті кислоти представляють собою органічні кислоти, що мають силу 0,5-5,0N (тобто, при значенні pH приблизно 0,1-0,3).

Коротко, рівень техніки пов'язаний з проблемами ферментів у шкірці. Проте, ці ферменти розглядаються як проблема, а не як сприятлива можливість. Таким чином, більша частина природних ферментів руйнується при використанні температури. Фактично, рівень техніки встановлює, що традиційне висушування у печі не є достатнім для руйнування ферменту, і тому необхідне попереднє нагрівання у водній системі. Інший підхід втягує застосування етанолу для руйнування ферментів перед висушуванням шкірки. Цей спосіб, проте, є небезпечним, оскільки існує потенційний ризик вибуху.

Використання природних ферментів з шкірки для дзеестерифікації пектину є відомим. Проте цей принцип використовується як для вже екстрагованого пектину, так і для свіжої шкірки.

Згідно з цим існує необхідність одержання сухого вихідного пектинвмісного матеріалу, в якому природні ферменти переведені в інактивований стан, так, що вони не змінюють склад пектину у свіжій шкірці під час транспортування та висушування. Ферменти також повинні бути інактивовані у сухій шкірці під час зберігання. Проте, коли вже висушену шкірку піддають екстракції, ферменти необхідно знову перевести в активний стан так, щоб дзеестерифікацію *in situ* у шкірці можна було завершити перед екстракцією пектину.

Несподівано було виявлено, що коли pH для свіжої шкірки доводиться до значення від 3,2 до

3,9 при температурі нижче 90°C, то нативна пектинестераза у шкірці стає інактивованою. Таким чином, мінімальна дзеестерифікація має місце під час транспортування свіжої шкірки та під час подальшого промивання та/або традиційного висушування сухої шкірки. Оскільки фермент залишається інактивованим, то активність ферменту може бути відновлена пізніше шляхом підвищення pH до значення, вищого ніж приблизно 4,0.

Даний винахід відноситься до удосконаленого способу обробки вихідного рослинного пектинвмісного матеріалу перед екстракцією пектину з вихідного рослинного пектинвмісного матеріалу.

Вихідний пектинвмісний рослинний матеріал може бути будь-яким пектинвмісним матеріалом. Такі матеріали включають цитрусові плоди, інші фрукти, такі, як яблука, буряк, залишки виробництва білків сої, насіння льону або саму рослину льону, алое, суцвіття соняшника, тощо. Даний винахід є, зокрема, корисним для обробки вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу, що має властиве йому значення pH, вище 4. Прикладами таких рослинних матеріалів є апельсини, грейпфрути, кормовий буряк, цукровий буряк та морква.

Даний винахід включає спосіб обробки такого рослинного матеріалу, одержаний пектин, отриманий подальшою екстракцією обробленого вихідного рослинного пектинвмісного матеріалу та застосування вказаного пектину.

Спосіб втягує наступні етапи: так швидко, як це можливо, після того, як вихідний пектинвмісний рослинний матеріал було піддано фізичній обробці, наприклад, пресуванню, залишки, наприклад, шкірку цитрусових, оболонки та віджимки після одержання соку, обробляють підкисленою водою. Якщо це не є прийнятним, то обробку вихідного рослинного пектинвмісного матеріалу здійснюють зразу ж після промивання свіжою водою вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу. Вихідний пектинвмісний рослинний матеріал можна піддавати обробці в такому вигляді, як він є, або вихідний пектинвмісний рослинний матеріал можна подрібнювати та нарізувати на шматочки для покращення обробки. Значення pH підкисленої води може варіювати у межах від 3,2 до 3,9 та більш бажано у межах інтервалу pH 3,4-3,7. При значенні pH, нижче, ніж приблизно 3,2, пектин буде розчинятися, що не є бажаним. При значеннях pH приблизно 4 та вище, з іншого боку, природна пектинестераза стає активною та починається дзеестерифікація та руйнування пектину. Обробка при використанні підкисленої води або промивання підкисленою водою може проводитися у серійному способі або шляхом безперервного процесу. Етап промивання у серійному способі, один або декілька, може використовуватися для видалення якомога більш повного, розчинного матеріалу такого, як цукор. Незважаючи на те, що можна використовувати більше трьох етапів промивання для видалення навіть більшої кількості розчинних речовин, три етапи промивання забезпечують прийнятний рівень розчинних речовин без неприйнятного підвищення затрат. У безперервному процесі промивання кислоту додають наприкінці промивної лінії, де природні кислоти, у разі присутності у

вихідному пектинвмісному рослинному матеріалі, мають найменшу концентрацію. Такий спосіб безперервного промивання у протистечі є добре відомим у галузі техніки.

Кислота, що використовується у даному винаході, може бути будь-якою неорганічною або будь-якою органічною кислотою, здатною до зниження значення рН у вихідному пектинвмісному рослинному матеріалі до бажаного значення рН. Прикла-

ди неорганічних кислот включають соляну кислоту, сірчану кислоту, діоксид сірки, азотну кислоту, тощо, а приклади органічних кислот включають лимонну кислоту, щавлеву кислоту, оцтову кислоту, тощо. Іншим засобом для досягнення бажаного значення рН вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу є використання буферного розчину замість кислоти. Приклади буферних розчинів включають:

Хімічні реактиви	Корисний інтервал буферизації при температурі 25°C
Соляна кислота /гідроксидат натрію	2,0-4,0
Гліцин / Соляна кислота	2,2-3,6
Гідрофталат калію / Соляна кислота	2,2-4,0
Лимонна кислота / Цитрат натрію	3,0-6,2
Ацетат натрію / Оцтова кислота	3,7-5,6

Для уникнення екстракції пектину, що міститься у вихідному пектинвмісному рослинному матеріалі, промивання підкисленою водою повинно проводитися при температурах нижче 90°C, бажано нижче 50°C та найбільш бажано при температурах нижче 35°C. З практичних міркувань промивання підкисленою водою буде проводитися при температурі води, яка є у наявності, що у більшості випадків буде лежати у межах від 10°C до 30°C, але нижчі температури підкисленої води також можуть використовуватися.

Коли використовується періодичний процес промивання, то прийнятним є слабке пресування промитого вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу між кожним етапом промивання для забезпечення найбільш повного видалення розчинних речовин. Пресування здійснюють таким чином, що вихідний рослинний матеріал пресується тільки при відсутності рідини, але не таким чином, що спричинює роздавнення вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу так, щоб пізніше виникали труднощі з процесами відокремлення та/або висушування.

Час, протягом якого вихідний пектинвмісний рослинний матеріал промивається за допомогою підкисленої води, має бути достатнім для ефективного зниження рН вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу до значення рН у межах від 3,2 до 3,9 та найбільш бажано у межах інтервалу від 3,4 до 3,7. Цей час типово складає від 5 до 60 хвилин для кожного етапу промивання, бажано 5-30 хвилин для кожного етапу промивання та найбільш бажано 10-20 хвилин для кожного етапу промивання. Більш довгий час промивання є також можливим, але не забезпечує будь-яких додаткових переваг.

Після промивання підкисленою водою активність рослинної естерази в обробленому вихідному пектинвмісному рослинному матеріалі є неактивною або інактивованою. Таким чином, природна рослинна естераза вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу більше не проявляє свій деестерифікаційний вплив на пектин, що міститься у вихідному пектинвмісному рослинному матеріалі. Таким чином, оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал може зберігатися або транспортуватися без деестерифікації пектину, що міститься у вихідному пектинвмісному рос-

линному матеріалі. Це є важливим, оскільки рослинна естераза деестерифікує пектин у вихідному пектинвмісному рослинному матеріалі шляхом блокування, що робить одержаний пектин більш чутливим до кальцію. Крім того, шляхом запобігання блокування груп карбонової кислоти мінімізується ризик деполімеризації під час подальшого висушування та екстракції при високих температурах. За допомогою інактивації рослинної естерази пектин залишається незмінним. Пектин в обробленому вихідному пектинвмісному рослинному матеріалі може далі бути екстрагований у відповідності з відомими способами.

Оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал може також використовуватися для негайної екстракції у відповідності з рівнем техніки. Альтернативно, оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал може висушуватися та необов'язково подрібнюватися перед тим, як пектин екстрагують з висушеного обробленого вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу. Ця можливість є особливо корисною, коли операція обробки та операція екстракції розділені у часі та коли транспортування вологої обробленої шкірки є непрактичним. Даний винахід є особливо корисним, коли оброблений вихідний пектинвмісний рослинний матеріал піддають послідовному висушуванню. Висушування має місце у будь-якому відомому способі з використанням або без використання вакууму. Температура висушування менша, ніж 80°C, рекомендується для уникнення створення твердого покриття на поверхні вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу. Оскільки рослинна естераза переводиться в неактивний стан та залишається інактивованою під час етапу висушування, усувається недолік відомих принципів висушування вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу. Під час традиційного висушування, в якому рослинна естераза не є інактивованою, повільне нагрівання під час висушування приводить до жорсткої деестерифікації, чого дає змогу уникнути даний винахід.

Проте даний винахід також пропонує можливість реактивації рослинної естерази так, що блокувальна деестерифікація може мати місце у вологому або сухому промитому підкисленою водою вихідному пектинвмісному рослинному матеріалі перед екстракцією. Це супроводжується розпи-

ленням вологого або сухого промитого підкисленою водою вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу з розчином лугу, такого, як розведений гідроксид натрію або будь-який інший прийнятний луг, для підвищення значення рН вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу до значення вище 4,0, бажано до значення 4,5-6,0 та найбільш бажано від 4,5 до 5,5. Альтернативно, вологий або сухий промитий підкисленою водою вихідний пектинвмісний рослинний матеріал може бути суспендованим у вказаному розведеному лузі. Температуру вибирають як оптимальну температуру для рослинної естерази, що знаходиться у межах від 40 до 80°C, бажано 50-70°C та найбільш бажано 60-70°C, а час вибирають для досягнення бажаної блокувальної деестерифікації. В залежності від температури час коливається від приблизно 1 години при високих температурах до декількох годин при більш низьких температурах.

Даний винахід також відноситься до пектину, екстрагованого з обробленого вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу. Таким чином, обробка вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу згідно з даним винаходом приводить до одержання пектину з низькою чутливістю до кальцію. Фактично, чутливість до кальцію, при вимірюванні як співвідношення міцності на розрив гелю, одержаного з додаванням іонів кальцію, та гелю, одержаного без додавання іонів кальцію, коливається у межах від 0,90 до 1,40, бажано 0,90-1,20 та найбільш бажано 0,90-1,10. Це поліпшення чутливості до кальцію є особливо корисним для пектину, одержаного з апельсинів, грейпфрутів та буряків.

У доповнення, вказаний пектин має більшу молекулярну вагу, ніж пектин, який не піддають обробці згідно з даним винаходом. Молекулярна вага збільшується на 50%, часто на 10-40% та звичайно на 15-30%. Збільшення молекулярної ваги є особливо вираженим, коли використовують апельсини, грейпфрути та буряки.

Крім того, стандартні значення USA SAG (визначення дивись нижче) пектину підвищується. Шляхом обробки вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу згідно з даним винаходом USA SAG підвищується на 30%, більш часто на 5-25% та звичайно на 10-20%. Підвищення USA SAG є особливо вираженим коли використовують апельсини, грейпфрути та буряки.

Даний винахід також відноситься до використання обробленого вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу для виробництва пектину, для виробництва корму для тварин та для використання у продуктах харчування.

Даний винахід також стосується застосування вказаного пектину. Використання включає продукти харчування, косметичні продукти, фармацевтичні продукти та товари домашнього вжитку. Пектин згідно з даним винаходом є особливо корисним для виготовлення джемів та желе, для кондитерських продуктів, включаючи джеми та тісто, шаруватих або не шаруватих, підкислених білкових напоїв, препаратів для лікування ран, стомічних продуктів, та ін.

Матеріали та способи
- Екстракція пектину

У цій заявці пектин екстрагують при використанні наступних етапів:

1. 15літрів води підігрівують до температури 70°C у резервуарі з корозійностійкої сталі, що вкритий кожухом та має об'єм 18літрів, а також оснащений мішалкою.

2. 500г шкірки додавали до води, а значення рН доводили до 1,7-1,8 шляхом додавання 62% азотної кислоти.

3. Екстракцію здійснювали при температурі 70°C протягом 7годин при перемішуванні.

4. Після екстракції вміст резервуару відфільтровували у воронку Бюхнера при використанні діатомової землі як фільтра.

5. Відфільтрований екстракт піддавали іонному обміну при перемішуванні та доданні 50мл смоли (Amberlite SR1L, що виробляється Rohm&Haas) на літр відфільтрованого екстракту. Іонний обмін здійснювали протягом 20 хвилин при перемішуванні.

6. Одержаний після проведення іонного обміну фільтрат відфільтровували у воронку Бюхнера, що оснащена тканинним фільтром.

7. Одержаний після проведення іонного обміну фільтрат осаджували шляхом додавання його до трьох частин 80% ізопропанолу при обережному перемішуванні.

8. Збирали преципітат на нейлоновий фільтр та віджимали вручну для видалення якомога більшої кількості ізопропанолу.

9. Віджати вручну преципітат один раз промивали в 60% ізопропанолі, а потім висушували при температурі 70°C у камері для висушування при атмосферному тиску.

10. Після висушування пектин подрібнювали.
- Міцність на розрив та IPPA температура при 65% SS для високомолекулярного пектину (повільний комплект)

Принцип

Міцність на розрив вимірювали на аналізаторі структури (TA-XT2) у синтетичному гелі при 65% SS та рН 3,0. Міцність на розрив вимірювали при вмісті кальцію 0 частинок на мільйон Ca^{2+} (розрив - Ca^{2+}) та 90 частинок на мільйон (розрив + Ca^{2+}).

Апаратура:

1. Ваги (максимальне навантаження 3-6кг)
2. Складні лабораторні мензурки (1000мл), 2 штуки
3. Мірна колба (100мл), 2 штуки
4. Магнітна мішалка
5. Високошвидкісний змішувач
6. Електрична плитка, діаметр 15см, 1500W
7. Резервуар з корозійностійкої сталі, 1,5л
8. Ківш
9. Мішалка (500об./хв.)
10. Вісь мішалки (НЕТО, пункт №000240, креслення №0004259)
11. Піпетка
12. Термостатично контрольована водяна баня Haake D-8-G
13. Стальні контейнери для зразків (внутрішній діаметр 50мм, внутрішня висота 74мм) з кришкою
14. Чашки Петрі (дно), діаметр 61мм, висота 9мм
15. Кришки для чашок Петрі

16. Термостат (25°C±2°C)
17. Клейка стрічка
18. Дротяний пристрій для нарізання шматочків сиру
19. Аналізатор структури типу ТА-ХТ2
20. Рефрактометр
21. рН-метр
22. Секундомір
23. Комп'ютер з Windows
24. Принтер
25. Комп'ютерна програма для визначення ІРРА температури. Програмне забезпечення отримували від СРKelco.

Буферний розчин №1 (+Ca²⁺):
 Моногідрат цитрату калію,
 $K_3C_6H_5O_7 \cdot H_2O$: 3,933г
 Тетрагідрат цитрату кальцію,
 $Ca_3(C_6H_5O_7)_2 \cdot 4H_2O$: 1,898г
 Бензоат натрію, $C_7H_5NaO_2$: 1,000г
 Моногідрат лимонної кислоти, 25мл (при-
 $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$, 50% (мас/об.): близко)

Розчиняли у вказаній послідовності у 900мл деіонізованої води, додавали лимонну кислоту при перемішуванні до тих пір, поки не розчинявся цитрат кальцію. Доводили значення рН до 3,4-3,5 за допомогою лимонної кислоти та кількісно переносили у вимірювальний стакан на 1000мл, який заповнювали до мітки деіонізованою водою.

Буферний розчин №2 (-Ca²⁺):
 Моногідрат цитрату калію,
 $K_3C_6H_5O_7 \cdot H_2O$: 3,933г
 Бензоат натрію, $C_7H_5NaO_2$: 1,000г
 Моногідрат лимонної кислоти, 18мл (при-
 $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$, 50% (мас/об.): близко)
 Розчиняли, як і буферний розчин №1.
 Розчин лимонної кислоти, 50% мас/об.:
 Моногідрат лимонної кислоти,
 $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$: 500г

Розчиняли лимонну кислоту в деіонізованій воді та наповнювали деіонізованою водою до загального об'єму 1000мл.

Розчин пектину:
 Кипляча вода, деіонізована: 380мл
 Пектин (марка 150 USA-SAG): хг

Відважували воду та повільно додавали пектин у високошвидкісний змішувач при швидкості 1. Після додання швидкість підвищували до швидкості 3 протягом 5 хвилин. Охолоджували розчин до кімнатної температури, відважували до 400г та перемішували у високошвидкісному змішувачі. Відважували 121г пектину у лабораторну мензурку на 250мл.

Розрахунок хг пектину:
 $(8,7 \times 150) / (\text{прийнятої марки USA-SAG}) = \text{хг}$
 Рецепт:
 Розчинні тверді речовини %: 65,0±0,5
 рН: 3,0±0,05
 Гель +Ca²⁺:

Буферний розчин №1: 135г
 Цукор: 385г
 Розчин пектину: 120г
 Розчин лимонної кислоти, 3мл (приблизно
 приблизно 50% (мас/об.): кількість)
 Загальна кількість, прибли-
 зно: 643г

Випаровування, приблизно: 43г
 Заключний вихід: 600г
 Gel -Ca²⁺:
 Буферний розчин №2: 135г
 Цукор: 385г
 Розчин пектину: 120г
 Розчин лимонної кислоти, 2,5мл (приблизно
 приблизно 50% (мас/об.): кількість)
 Загальна кількість, прибли-
 зно: 642,5г
 Випаровування, приблизно: 42,5г
 Заключний вихід: 600г
 Процедура:

Визначення ІРРА температури (розроблено СР Kelco) та приготування розчину зразка, що містить кальцій, або в якому відсутній кальцій

1. Починали програму. Застосовували наступні параметри:

Початкова температура: 95°C
 Заключна температура: 15°C
 Температурний градієнт: 1°C/хв.
 Введення найменування файлу

2. Наповнювали деіонізованою водою металевий контейнер та поміщали його у термостатично контрольовану водяну баню Haake D-8-G

3. Розміщували електрод порівняння у центрі контейнера та натискали START. Водяна баня підігрівалася до початкової температури.

4. Відважували буферний розчин у калібрований резервуар (діаметр 16см, внутрішня висота 7,5см). Додавали цукор та запускали секундомір. Нагрівали до кипіння при перемішуванні (500об./хв.).

5. Додавали розчин пектину з лабораторної скляної мензурки на 250мл (120г), зішкрібали (залишок у мензурці складає приблизно 1г) та продовжували кип'ятіння та перемішування.

6. Продовжували кип'ятіння протягом 1 хвилини.

7. Додавали підраховану кількість розчину лимонної кислоти. Продовжували нагрівання та перемішування протягом 30 секунд.

8. Відважували до 600г деіонізованої води або нагрівали до випаровування (На практиці можна додавати трохи більшу кількість води для того, щоб досягти коригування твердих розчинних речовин).

9. Припиняли нагрівання резервуару та перемішували при використанні ковша. Залишали на 20 секунд перед видаленням піни.

10. Наповнювали два контейнери для зразків (з кришками) для термостатично контрольованої водяної бані Haake D-8-G та поміщали сенсори у центр контейнерів. Активували зелену кнопку НАТИСНУТИ ДЛЯ ПРОДОВЖЕННЯ. Коли різниця температур встановлювалася на рівні менше, ніж 2°C, починали охолодження. На завершення комп'ютер буде підраховувати температуру желеутворення.

Визначення міцності на розрив:

1. Наповнювали зразу ж після етапу 7 3 чашки Петрі (нижня частина) (діаметр 61мм, висота 9мм), усі оснащені поверхневою стрічкою.

2. Накривали чашки Петрі кришками для запобігання висушування гелю при стоянні.

3. Залишали гелі на 18-24годин при температурі $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ перед вимірюванням міцності на розрив.

Розрив:

1. Видаляли поверхневу стрічку та зрізали верхівку гелю за допомогою дротяного пристрою для розрізання шматочків сиру на рівні країв чашки Петрі.

2. Вимірювали міцність на розрив на TA-XT2

Розмір плунжера: 6мм

Діаметр плунжера: 12,7мм

Швидкість руху плунжера: 0,5мм/сек.

3. Представляли результати як середнє значення для трьох гелів, що містять Ca^{2+} та для трьох гелів без Ca^{2+} , відповідно (розрив +Ca) та (розрив -Ca).

4. Вимірювали вміст розчинних твердих речовин. Може вимірюватися у металевих контейнерах при IPPA температурі. Розчинні тверді речовини мають складати 64,5-65,5%. В іншому випадку дослід необхідно повторити.

5. Вимірювали значення pH. Воно має складати 2,95-3,05. В іншому випадку дослід необхідно повторити з доведеною кількістю лимонної кислоти, див додаток.

Примітка:

Доведення, якщо значення pH виходить за межі інтервалу аналізу.

Кількість лимонної кислоти в 1мл може бути підрахована згідно з наступними формулами, якщо склад пектину є відомим: $x = \text{pH}$ в 1% розчині з кальцієм:

Пектини лимону талайми: 50% розчин лимонної кислоти = $0,0094x^2 + 0,8926x + 0,2004$

Пектини апельсинів: 50% розчин лимонної кислоти = $1,1364x^2 - 6,7409x + 12,775$

без кальцію:

Пектини лимону та лайми: 50% розчин лимонної кислоти = $0,0671x^2 + 0,4573x + 0,8023$

Пектини апельсинів: 50% розчин лимонної кислоти = $2,2727x^2 - 14,482x + 25,551$

Кількість лимонної кислоти є тільки приблизною. Значення pH заключного продукту визначає кількість лимонної кислоти, що додається. Формули для підрахунку кількості розчину 50% лимонної кислоти одержують шляхом регресії суттєвої кількості зразків.

- Міцність на розрив та IPPA температура при 60% SS для високомолекулярного пектину (швидкий комплект)

Принцип

Міцність на розрив вимірювали на аналізаторі структури (TA-XT2) у синтетичному желе при 60% SS та pH 3,0. Міцність на розрив вимірювали при вмісті кальцію 0 частинок на мільйон Ca^{2+} (розрив - Ca^{2+}) та 90 частинок на мільйон (розрив + Ca^{2+}).

Апаратура:

1. Ваги (максимальне навантаження 3-6кг)
2. Скляні лабораторні мензурки (1000мл), 2 штуки

3. Мірна колба (100мл), 2 штуки

4. Магнітна мішалка

5. Високошвидкісний змішувач

6. Електрична плитка, діаметр 15см, 1500W

7. Резервуар з корозійностійкої сталі, 1,5л

8. Ківш

9. Мішалка (500об./хв.)

10. Вісь мішалки (НЕТО, пункт №000240, креслення №0004259)

11. Піпетка

12. Термостатично контрольована водяна баня Haake D-8-G

13. Стальні контейнери для зразків (внутрішній діаметр 50мм, внутрішня висота 74мм) з кришками

14. Чашки Петрі (нижня частина), діаметр: 61мм, висота 9мм

15. Кришки для чашок Петрі

16. Термостат ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$)

17. Клейка стрічка

18. Дротяний пристрій для нарізання шматочків сиру

19. Аналізатор структури типу TA-XT2

20. Рефрактометр

21. pH-метр

22. Секундомір

23. Комп'ютер з Windows

24. Принтер

25. Комп'ютерна програма для визначення IPPA температури. Програмне забезпечення отримували від CPKelco.

Буферний розчин №1 (+ Ca^{2+}):

Моногідрат цитрату калію,

$\text{K}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 3,933г

Тетрагідрат цитрату кальцію,

$\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: 1,898г

Бензоат натрію, $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_2$: 1,000г

Моногідрат лимонної кислоти, 25мл (приблизно) $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 50% (мас/об.):

Розчиняли компоненти у вказаній послідовності у 900мл деіонізованої води та кількісно перенесли у вимірювальний мензурку на 1000мл, яку заповнювали до мітки деіонізованою водою. Значення pH розчину має бути 3,4-3,5.

Буферний розчин №2 (- Ca^{2+}):

Моногідрат цитрату калію,

$\text{K}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 3,933г

Бензоат натрію, $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_2$: 1,000г

Моногідрат лимонної кислоти, 18мл (приблизно) $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 50% (мас/об.):

Розчиняли так, як і буферний розчин №1.

Розчин лимонної кислоти, 50% мас/об.:

Моногідрат лимонної кислоти,

$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 500г

Розчиняли лимонну кислоту в деіонізованій воді та доливали деіонізованою водою до загального об'єму 1000мл.

Розчин пектину:

Кипляча вода, деіонізована: 380мл

Пектин (марка 150 USA-SAG): хг

Розчиняли пектин у високошвидкісному змішувачі протягом 5 хвилин. Охолоджували розчин до кімнатної температури, відважували до 400г та перемішували у високошвидкісному змішувачі. Відважували 121г розчину пектину у лабораторну мензурку на 250мл.

Розрахунок хг пектину:

$(8,7 \times 150) / (\text{прийнятої марки USA-SAG}) = \text{хг}$

Рецептура:

Розчинні тверді речовини %: 60,0 \pm 0,5

pH: 3,0 \pm 0,05

Гель +Ca ²⁺ :	
Буферний розчин №1:	135г
Цукор:	355г
Деіонізована вода	30г
Розчин пектину:	120г
Розчин лимонної кислоти, приблизно 50% (мас/об.):	Змл (приблизна кількість)
Загальна кількість, приблизно:	643г
Випаровування, приблизно:	43г
Заключний вихід:	600г
Гель -Ca ²⁺ :	
Буферний розчин №2:	135г
Цукор:	355г
Деіонізована вода	30г
Розчин пектину:	120г
Розчин лимонної кислоти, приблизно 50% (мас/об.):	2,5мл (приблизна кількість)
Загальна кількість, приблизно:	642,5г
Випаровування, приблизно:	42,5г
Заключний вихід:	600г
Процедура:	

Визначення IPRA температури, що представляє собою температуру загуснення гелю, виготовленого у відповідності з зазначеною вище композицією, та приготування розчину зразка, що містить кальцій, або в якому відсутній кальцій

1. Починали програму. Застосовували наступні параметри:

Початкова температура:	95°C
Заключна температура:	15°C
Температурний градієнт:	1°C/хв.
Введення найменування файлу	

2. Наповнювали деіонізованою водою металевий контейнер та поміщали його у термостатично контрольовану водяну баню Naake D-8-G

3. Розміщували електрод порівняння у центрі контейнера та натискали START. Водяна баня підігрівалася до початкової температури.

4. Відважували буферний розчин у калібрований резервуар (діаметр 16см, внутрішня висота 7,5см). Додавали цукор та запускали секундомір. Нагрівали до кипіння при перемішуванні (500об./хв.).

5. Додавали розчин пектину з лабораторної скляної мензурки на 250мл (120г) та зішкрібали залишок (залишок у мензурці складає приблизно 1г) та продовжували кип'ятіння та перемішування.

6. Продовжували кип'ятіння протягом 1 хвилини.

7. Додавали підраховану кількість розчину лимонної кислоти. Продовжували нагрівання та перемішування протягом 30 секунд

8. Відважували до 600г деіонізованої води або нагрівали до випаровування (На практиці можна додавати трохи більшу кількість води для того, щоб досягти коригування розчинних твердих речовин).

9. Припиняли нагрівання резервуару та перемішували при використанні ковша. Залишали на 20 секунд перед видаленням піни.

10. Наповнювали два контейнери для зразків (з кришками) для термостатично контрольованої водяної бані Naake D-8-G та поміщали сенсори у

центр контейнерів. Активували зелену кнопку НАТИСНУТИ ДЛЯ ПРОДОВЖЕННЯ. Коли різниця температур встановлювалася на рівні менше, ніж 2°C, починали охолодження. На завершення комп'ютер буде підраховувати температуру желеутворення.

Визначення міцності на розрив:

1. Наповнювали зразу ж після етапу 7 3 чашки Петрі (нижня частина) (діаметр 61мм, висота 9мм), усі оснащені поверхневою стрічкою.

2. Накривали чашки Петрі кришками для запобігання висушування гелю при стоянні.

3. Залишали гелі на 18-24годин при температурі 25°C±2°C перед вимірювання міцності на розрив.

Розрив:

1. Видаляли поверхневу стрічку та зрізали верхівку гелю за допомогою дротяного пристрою для розрізання шматочків сиру на рівні країв чашки Петрі.

2. Вимірювали міцність на розрив на TA-XT2

Розмір плунжера: 6мм

Діаметр плунжера: 12,7мм

Швидкість руху плунжера: 0,5мм/сек.

3. Представляли результати як середнє значення для трьох гелів, що містять Ca²⁺, та для трьох гелів без Ca²⁺, відповідно (розрив +Ca) та (розрив -Ca).

4. Вимірювали вміст розчинних твердих речовин. Може вимірюватися у металевих контейнерах при IPRA температурі. Розчинні тверді речовини мають складати 59,5-60,5%. В іншому випадку дослід необхідно повторити.

5. Вимірювали значення pH. Воно має складати 2,95-3,05. В іншому випадку дослід необхідно повторити з доведеною кількістю лимонної кислоти, див додаток.

Примітка:

Доведення значення pH, якщо воно виходить за межі інтервалу аналізу.

Кількість лимонної кислоти в 1мл може бути підрахована згідно з наступними формулами, якщо склад пектину є відомим: $x = pH$ в 1% розчині

З кальцієм:

Пектини лимону та лайми: 50% розчин лимонної кислоти = $0,0094x^2 + 0,8926x + 0,2004$

Пектини апельсинів: 50% розчин лимонної кислоти = $1,1364x^2 - 6,7409x + 12,775$

Без кальцію:

Пектини лимону та лайми: 50% розчин лимонної кислоти = $0,0671x^2 + 0,4573x + 0,8023$

Пектини апельсинів: 50% розчин лимонної кислоти = $2,2727x^2 - 14,482x + 25,551$

Кількість лимонної кислоти є тільки приблизною. Значення pH заключного продукту визначає кількість лимонної кислоти, що додається. Формули для підрахунку кількості розчину 50% лимонної кислоти одержують шляхом регресії суттєвої кількості зразків.

- Визначення ступеня USA SAG пектину вищого естеру

Принцип:

Спосіб визначення ступеня USA SAG представляє собою спосіб, який безпосередньо виражає здатність пектину до зв'язування цукру. Спосіб

передбачає одержання гелю, що містить 65% розчинних твердих речовин при pH 2,2-2,4, такий гель має значення розтікання 23,5%. Спосіб вимагає виготовлення ряду гелів, що містять різні концентрації пектину. Для гелю, який відповідає цим вимогам, підраховують співвідношення між пектином та цукром. Якщо це співвідношення складає 1:150, то пектин має значення 150 USA SAG.

Апаратура:

1. Аналітичні ваги
2. Лабораторні ваги (максимальне навантаження 3-5кг, точність 0,2г)
3. Корозійностійкий резервуар 1,5л, діаметр - 15см
4. Електрична плітка діаметром - 15см, 1500В
5. Двигун змішувача 500-1000об./хв.
6. Вісь змішувача (НЕТО, стаття №000240, креслення №0004259)
7. Лабораторна мензурка (на 1000мл та 150мл)
8. Шпатель
9. Секундомір
10. Термометр, 100°C
11. pH-метр
12. SAG-склянки та клейка стрічка
13. Ріджеліметр
14. Дротяний пристрій для розрізування шматочків сиру

15. Рефрактометр

16. Термостат

Хімічні реактиви:

Цукор

Винна кислота (488г на один літр розчину)

Деіонізована вода

Приготування гелю

1. Відважували у лабораторну мензурку на 1000мл 650/(650-x)г цукру, (x = передбачувана твердість пектину).

2. Перенесли 20-30г зваженого цукру у суху мензурку на 150мл та додавали зважений зразок пектину (вагу пектину для використання у гелі виражали як: 650г/уявнийградус).

3. Ретельно перемішували пектин та цукор у мензурці шпателем.

4. Виливали 410мл деіонізованої води / дистильованої води у калібрований резервуар з корозійностійкої сталі та поміщали в нього вісь змішувача. Виливали суміш пектин/цукор у воду - зразу ж - продовжуючи перемішування при 1000об./хв. Продовжували перемішування протягом двох хвилин. (Важливо якомога швидше занурити розчин пектин/цукор у воду та перенести будь-які слідові кількості пектину/цукру у маленькій мензурці до резервуару).

5. Через 2 хвилини поміщали резервуар на попередньо нагріту електричну плітку та перемішували протягом 500об./хв.

6. Коли вміст було повністю перемішано, додавали цукор, що залишився, та продовжували нагрівання та перемішування до тих пір, поки цу-

кор не розчинявся повністю та до тих пір, поки нетто вага партії желе не досягала 1015г.

7. Електрична плітка встановлювалася так, щоб загальний час нагрівання для гелю складав 5-8 хвилин (повне завантаження, 1500В).

8. Після зважування 1015г серії на лабораторних вагах залишали її на столі на одну хвилину. Потім нахилили резервуар так, щоб вміст трохи не переливався через край та швидко знімали піну. Поміщали термометр та продовжували обережне перемішування до тих пір, поки температура не встановлювалася точно на рівні 95°C.

9. Швидко виливали зразок у два попередньо приготовлені склянки SAG, кожна з яких містила 1,75-2,25мл розчину винної кислоти та була оснащена клейкою стрічкою, що дозволяє заповнювати склянки на 1см вище країв.

10. Через 15 хвилин, накривали склянки кришками, та коли температура досягала 30-35°C, поміщали у склянки в термостат при температурі 25±3°C протягом 20-24годин.

Вимірювання:

1. Через 20-24годин стояння гелів знімали кришки зі склянок та видаляли стрічку. При використанні дротяного пристрою для нарізання шматочків сиру зрізали верхній шар та відкидали.

2. Потім обережно перевертали гель та видаляли його у перевернутому положенні на поверхню скляної пластини, оснащеної ріджеліметром.

3. Запускали секундомір, як тільки гель опинявся на скляній поверхні. Якщо гель трохи нахилився в одну сторону, то це звичайно коригували обережним нахилом скляної пластини для вирівнювання.

4. Ставили планшет та гель на основу ріджеліметра так, щоб гель опинявся у центрі під гвинтом мікрометра, який повинен потім опускати до поверхні гелю.

5. Через дві хвилини після запуску секундоміра приводили точку гвинта мікрометра у контакт з поверхнею гелю та реєстрували значення ріджеліметра з точністю до 0,1.

6. Вимірювали pH, якщо SAG гелю був обвислим або нетиповим при візуальному огляді або обробці. Значення pH має бути від 2,2 до 2,4. В іншому випадку зразок має бути досліджений повторно.

Підрахунок значення градусу желювання пектину:

1. Використовуючи калібрувальну таблицю ріджеліметру, перетворювали дані зчитування ріджеліметру на фактор 1 (див. Фіг.1).

2. Використовуючи коригувальну таблицю для розчинних твердих речовин, виміряні тверді розчинні речовини перетворювали на фактор 2 (див.Фіг.2).

3. При множенні уявного значення градусу желювання, одержаного у досліді, на фактори поправки, одержували істинне значення градусу:

- Уявне значення x Фактор 1 x Фактор 2 = істинне значення

Фіг.1: Калібрувальна таблиця ріджеліметра

Значення SAG, що вимірюється ріджеліметром	Фактор 1
19,0	1,200
19,1	1,195
19,2	1,190
19,3	1,186
19,4	1,182
19,5	1,177
19,6	1,173
19,7	1,168
19,8	1,163
19,9	1,158
20,0	1,155
20,1	1,150
20,2	1,146
20,3	1,142
20,4	1,137
20,5	1,133
20,6	1,128
20,7	1,124
20,8	1,120
20,9	1,115
21,0	1,110
21,1	1,107
21,2	1,102
21,3	1,097
21,4	1,093
21,5	1,088
21,6	1,084
21,7	1,080
21,8	1,076
21,9	1,072
22,0	1,067
22,1	1,062
22,2	1,057
22,3	1,054
22,4	1,048
22,5	1,044
22,6	1,040
22,7	1,035
22,8	1,031
22,9	1,027
23,0	1,022
23,1	1,018
23,2	1,013
23,3	1,009
23,4	1,005
23,5	1,000
23,6	0,997
23,7	0,992
23,8	0,987
23,9	0,983
24,0	0,978
24,1	0,974
24,2	0,969
24,3	0,965
24,4	0,960
24,5	0,957
24,6	0,953
24,7	0,948
24,8	0,944
24,9	0,940

25,0	0,936
25,1	0,933
25,2	0,928
25,3	0,925
25,4	0,921
25,5	0,917
25,6	0,913
25,7	0,910
25,8	0,906
25,9	0,902
26,0	0,898
26,1	0,895
26,2	0,892
26,3	0,888
26,4	0,885
26,5	0,881
26,6	0,878
26,7	0,875
26,8	0,872
26,9	0,868
27,0	0,864
27,1	0,862
27,2	0,859
27,3	0,856
27,4	0,853
27,5	0,850
27,6	0,847
27,7	0,844
27,8	0,842
27,9	0,838

Кореляційні значення, підраховані для „обмінного“ SAG аналізу

Процент SS	Фактор коригування
64,0	1,034
64,1	1,031
64,2	1,028
64,3	1,024
64,4	1,021
64,5	1,018
64,6	1,015
64,7	1,012
64,8	1,008
64,9	1,004
65,0	1,000
65,1	0,997
65,2	0,993
65,3	0,990
65,4	0,987
65,5	0,984
65,6	0,980
65,7	0,975
65,8	0,970
65,9	0,967
66,0	0,964
66,1	0,960
66,2	0,957

Фіг.2: Кореляційні значення

- Визначення молекулярної ваги пектину

Принцип:

Молекулярну вагу оцінювали шляхом вимірювання відносної в'язкості 0,1%-ного розчину пектину при використанні Na-гексаметафосфату.

Апаратура:

1. Віскозиметр Вітега-Оствальда або подібний до нього (мінімально два) з інтервалом часу витікання води від 100 до 150 секунд (25°C).

2. Світлопроникна термостатична водяна баня, 25,0°C±0,3°C.

3. Цифровий секундомір

Реагенти:

1. Розчин Na-гексаметафосфату

(а) 20г Na-гексаметафосфату розчиняли в 1800мл іонообмінної деаерованої (кип'яченої) води.

(б) Значення рН доводили до 4,50±0,05 за допомогою 1МHCl

(с) Розчин розводили іонообмінною деаерованою (кип'яченою) водою до 2000мл

Процедура:

1. Використовувати віскозиметри повинні бути очищені так, як вказано у розділі: Очистка/експлуатація віскозиметрів.

2. Вимірювали час витікання гексаметафосфату (розділ: вимірювання часу витікання) на використуваних віскозиметрах для кожного моменту часу, при цьому новий розчин гексаметафосфату готували для кожного нового робочого дня, коли проводили вимірювання для розчинів пектину. Безпосередньо перед вимірюванням необхідну кількість розчину гексаметафосфату фільтрували через скляний фільтр #3.

3. Систему зразка пектину для визначення молекулярної маси готували так, як описано нижче:

а) Проводили кислотне промивання пектину, як описано у способі для визначення AGA та DE (GENU контрольний спосіб №378).

б) Приблизно 90г розчину гексаметафосфату відважували у калібрований резервуар з магнітною мішалкою.

с) Поступово додавали при перемішуванні 0,1000г промитого кислотою пектину.

д) Нагрівали розчин до температури 70°C при перемішуванні. Проводили перемішування до тих пір, поки пектин повністю не розчинявся.

е) Охолоджували розчин до температури 25°C.

ф) Доливали розчин до 100,0г розчином гексаметафосфату.

г) Фільтрували через скляний фільтр #3.

4. Для кожного визначення молекулярної ваги вимірювали час витікання (розділ: Вимірювання часу витікання) для розчину пектин/гексаметафосфат на двох різних віскозиметрах.

5. Обчислювали молекулярну масу (розділ: Вимірювання) окремо для кожного віскозиметру, використовуючи останній вимірюваний час витікання для розчину гексаметафосфату на даному віскозиметрі.

6. Якщо різниця між двома підрахованими молекулярними масами буде меншою, ніж 3500, то підраховували середнє значення. Округлювали значення до найближчого числа, кратного 1000, це може бути результатом способу.

7. Якщо різниця між двома підрахованими молекулярними масами буде 3500 або більше, то віскозиметр необхідно очистити та провести по-

вторне вимірювання часу витікання для розчину гексаметафосфату.

Вимірювання часу витікання:

1. Двічі промивали віскозиметр зі зразком.

2. Виливали 5,00мл зразка у віскозиметр та поміщали його на термостатичну водяну баню при температурі 25,0°C±0,3°C за, принаймні, 15 хвилин перед проведенням вимірювання.

3. Час вимірювали при двох швидкостях вимірювання. Якщо різниця між одержаними значеннями часу більша, ніж х секунд, то вимірювання повторювали до тих пір, поки не одержували два послідовні вимірювання, які відрізняються не більше, ніж на х секунд,

- х = 0,2 секунди при вимірюванні розчину гексаметафосфату

- х = 0,4 секунди при вимірюванні зразків

4. Час витікання, який необхідний для подальшого підрахунку, представляє собою середнє значення згаданих вище двох або трьох ідентичних або майже ідентичних результатів вимірювання.

Очищення/експлуатація віскозиметрів:

1. Після закінчення роботи: промивали один раз за допомогою іонообмінної води а потім один раз за допомогою 1МHCl.

2. Вимочування між двома робочими днями: 1МHCl.

3. Перед вимірюванням у новий робочий день: двічі промивали за допомогою іонообмінної (недеаерованої (кип'яченої)) води.

4. Засорювання: обережно прочищали за допомогою тонкого мідного дроту.

Підрахунок:

Відносну густину підраховували як описано нижче:

$$n_r = \{t_0 - (K/t_0)\} / \{t_h - (K/t_h)\},$$

де t_0 та t_h представляють собою час витікання для розчину пектину та розчину гексаметафосфату, відповідно.

Параметр К з достатньою точністю може фіксуватися при значенні 107сек² при використанні віскозиметру Вітега-Оствальда. В іншому випадку значення К може бути підраховане як описано нижче:

$$K = \{Q \times t_v^2\} / \{Q + (0,226 \times L \times t_v)\},$$

де Q = об'єм віскозиметра у см³, L = довжина капілярної трубки у см, а t_v = час витікання для води у секундах.

Молекулярну вагу, M_w та кількість пектину підраховували, як описано нижче:

$$M_w = \{(n_r^{1/p} - 1) \times P\} / k \times C,$$

де значення Р фіксують при 6, а k при $4,7 \times 10^{-5}$ мол \times г⁻¹; при цьому С представляє собою вагове значення пектину у системі зразка, тобто, 0,1% з введенними цифровими значеннями, при цьому одержували:

$$M = 1,277 \cdot 10^6 (n_r^{1/6} - 1) / \text{г/мол.}$$

Література:

Povl E. Christensen: Methods of Grading Pectin in Relation to the Molecular Weight (Intrinsic Viscosity) of Pectin.

Food Research, vol. 19, стор. 163-171 (1954).
Christian J.B. Smit та Edwin F. Bryant: Properties of Pectin Fractions Separated on Diethylaminoethyl-

cellulose Columns. Journal of Food Science, vol. 32, стор. 197-199 (1967)

- Визначення ступеня естерифікації (DE) та галактуронової кислоти (GA) у неамідному пектині

Принцип:

Цей спосіб відноситься до визначення % DE та % GA у пектині, що не містить амідів та ацетатес-терів

Апаратура:

1. Аналітичні ваги
2. Сляна мензурка, 250мл, 5 штук
3. Лабораторна мензурка, 100мл
4. Вакуумний насос
5. Колба для відстоювання
6. Сляний фільтр №1 (воронка Бюхнера та фільтрувальний папір)
7. Секундомір
8. Пробірка для дослідів
9. Висушувальна камера при температурі 105°C
10. Камера для висушування
11. Магнітний мішалка та магніт
12. Бюретка (10мл, точність $\pm 0,05$ мл)
13. Піпетки (20мл: 2 штуки, 10мл: 1 штука)
14. рН-метр/автобюретка або фенолфталеїн

Хімічні реагенти:

1. Вода, що не містить діоксиду вуглецю (деіонізована вода)
2. Ізопропанол (IPA), 60% та 100 %
3. Соляна кислота (HCl), 0,5N, та така, що димить, 37%
4. Гідроксид натрію (NaOH, 0,1N (відкоригована до чотирьох децималів, наприклад, 0,1002), 0,5N

5. Нітрат срібла (AgNO_3), 0,1N

6. Азотна кислота (HNO_3), 3N

7. Індикатор, фенолфталеїн, 0,1%

Процедура - Визначення % DE та % GA

(Кислий спирт: 100мл 60% IPA + 5мл HCl, що димить, 37%):

1. Відважували 2,0000г пектину у сляну мензурку на 250мл.
2. Додавали 100мл кислого спирту та перемішували на магнітній мішалці протягом 10 хвилин.
3. Фільтрували через сухий зважений сляний фільтр.
4. Промивали повністю за допомогою 6x15мл кислого спирту.
5. Промивали 60% IPA, до тих пір, поки фільтрат не ставав вільним від хлору (приблизно 500мл).
6. Промивали 20мл 100% IPA.
7. Висушували зразок протягом 2,5годин при температурі 105°C.
8. Зважували тигель після висушування та охолоджували у сушильній шафі.
9. Точно відважували 0,4000г зразка у сляну мензурку на 250мл.
10. Відважували два зразки для подвійного визначення. Розходження між двома визначеннями має бути максимально 1,5% в абсолютних величинах. Якщо розходження перевищує 1,5% дослід потрібно повторити.

11. Зважували пектин з приблизно 2мл 100 % IPA та додавали приблизно 100мл деіонізованої

води, вільної від діоксиду вуглецю при перемішуванні на магнітній мішалці.

* (Хлоридний дослід: Переносили приблизно 10мл фільтрату у пробірку для дослідження, додавали приблизно 3мл 3N HNO_3 , та додавали кілька крапель AgNO_3 . Фільтрат буде вільним від хлориду, якщо розчин є прозорим. У випадку, якщо це не так, то необхідно провести осадження за допомогою хлориду срібла).

Зразок зараз готовий для титрування або при використанні індикатора, або при використанні рН-метра/автобюретки.

Процедура - Визначення тільки % DE

(Кислий спирт: 100мл 60% IPA + 5мл HCl, що димить, 37%):

1. Відважували 2,00г пектину у сляну мензурку на 250мл.
2. Додавали 100мл кислого спирту та перемішували на магнітній мішалці протягом 10 хвилин.
3. Фільтрували через воронку Бюхнера з фільтрувальним папером.
4. Промивали воронку за допомогою 90мл кислого спирту
5. Промивали за допомогою приблизно 1000мл 60% IPA.
6. Промивали за допомогою приблизно 30мл 100% IPA.

7. Висушували зразок протягом приблизно 15 хвилин на воронці Бюхнера з вакуумним висушуванням.

8. Відважували приблизно 0,40г зразка у сляну мензурку на 250мл.

9. Відважували два зразки для подвійного визначення. Розходження між двома визначеннями має бути максимально 1,5% в абсолютних величинах. Якщо розходження перевищує 1,5%, то дослід потрібно повторити.

10. Зважували пектин з приблизно 2мл 100 % IPA та додавали приблизно 100мл деіонізованої води на магнітній мішалці.

Зразок зараз готовий для титрування або при використанні індикатора, або при використанні рН-метра/автобюретки.

Примітка: Дуже важливо, щоб зразки з % DE < 10% титрувалися дуже повільно, так, щоб зразок тільки повільно розчинявся під час титрування. Титрування при використанні індикатора:

1. Додавали 5 крапель фенолфталеинового індикатора та титрували при використанні 0,1 N NaOH до зміни кольору (реєстрували його як V1 титр).

2. Додавали 20,00мл 0,5N NaOH при перемішуванні. Залишали для відстоювання на 15 хвилин, під час стояння зразок необхідно прикрити фольгою.

3. Додавали 20,00мл 0,5N HCl при перемішуванні, яке продовжували до зникнення забарвлення.

4. Додавали 3 краплі фенолфталеїну та титрували з 0,1N NaOH до зміни забарвлення (реєстрували його як V2 титр).

Сліпий дослід (Здійснювали подвійне визначення):

Додавали 5 крапель фенолфталеїну до 100мл води, що не містить діоксиду вуглецю, або деіоні-

зованої води (того самого типу, що й той, який використовується для зразка) та титрували у скляній мензурці на 250мл з 0,1N NaOH до зміни забарвлення (1-2 краплі).

Додавали 20,00мл 0,5N NaOH та залишали зразок стояти протягом точно 15 хвилин. При стоянні зразок необхідно накривати фольгою.

Додавали 20,00мл 0,5N HCl та 3 краплі фенолфталеїну та титрували до зміни кольору з 0,1N NaOH (реєстрували його як B1). Максимальна кі-

Зразок з
Відносний діапазон
Затримка (сек.)
Швидкість - V1
Швидкість - V2

1. Титрували з 0,1N NaOH до pH 8,5 (реєстрували результат як V1 титр).

2. Додавали 20,00мл 0,5N NaOH при перемішуванні та залишали зразок стояти без перемішування протягом точно 15 хвилин. При стоянні зразок необхідно прикрити фольгою.

3. Додавали 20,00мл 0,5N HCl при перемішуванні, перемішування продовжували до тих пір поки значення pH не ставало постійним.

4. Після цього титрували за допомогою 0,1N NaOH до pH 8,5 (реєстрували результат як V2 титр).

Сліпий дослід (здійснювали подвійне визначення):

1. Титрували 100мл води, що не містить діоксиду вуглецю, або деіонізованої води (того самого типу, що й та, яку брали для зразка) до значення pH 8,5 за допомогою 0,1N NaOH (1-2 краплі).

2. Додавали 20,00мл 0,5N NaOH при перемішуванні та залишали зразок сліпого дослідку стояти без перемішування протягом точно 15 хвилин. При стоянні зразок має бути прикритий фольгою.

3. Додавали 20,00мл 0,5 N HCl при перемішуванні, перемішування продовжували до тих пір, поки значення pH не ставало постійним.

4. Титрували до значення pH 8,5 за допомогою 0,1N NaOH (реєстрували його як B1). Максимальна кількість для титрування складає 1мл 0,1N NaOH. Якщо проводять титрування з кількістю, більшою, ніж 1мл, то 0,5N HCl необхідно розводити невеликою кількістю деіонізованої води. Якщо значення pH не знижується нижче 8,5 при доданні 0,5N HCl, то 0,5N NaOH необхідно розводити невеликою кількістю води, що не містить діоксиду вуглецю. Максимально допустиме розведення водою є таким, що розведення складають від 0,52 до 0,48N.

Підрахунок:

$$- V_t = V_1 + (V_2 - B_1)$$

$$- \% DE \text{ (Ступінь естерифікації)} = \{(V_2 - B_1) \times 100\} / V_t$$

$$- \% DFA \text{ (Кількість вільної кислоти)} = 100 - \% DE$$

$$- \% GA^* \text{ (Кількість галактуранової кислоти)} = (194,1 \times V_t \times N \times 100) / 400$$

* На основі кількості, вільної від зольних елементів, та вільної від води

194,1: Молекулярна вага для GA

лькість для титрування складає 1мл 0,1N NaOH. Якщо титрування здійснюють з кількістю, більшою, ніж 1мл, то 0,5N HCl має бути розведена невеликою кількістю води, вільною від діоксиду вуглецю. Максимально можливе розведення водою є таким, що розчини мають нормальність від 0,52 до 0,48N.

Титрування при використанні pH-метра/автобюретки:

При використанні автобюретки типу ABU 80 застосовують наступні установки:

% DE < 10	сліпий дослід
0,5	5
50	5
10	5
15	5

N: Відкоригована нормальність для 0,1N NaOH, що використовується для титрування (наприклад, 0,1002 N)

400: вага в грамах промитого та висушеного зразка для титрування

% чистий пектин = {(кількість пектину, промитого кислотою та висушеного) × 100} / (зважена кількість пектину)

- Чутливість до кальцію - CS-99-2

Розчин пектину доводили до значення pH 3,60 при використанні 3,0M Na-ацетатного буфера. Зразок розчиняли шляхом нагрівання на водяній бані при температурі 75°C протягом 5-10 хвилин. Потім 272 частинки на мільйон кальцію додавали до зразка (вище 70°C). Густина зразка у нормі вимірюється за допомогою віскозиметра LVT при використанні вісі номер 1 або 2 при швидкості 60об./хв., 5°C, через 19+/-3години. Вимірювання можна проводити без запобіжного циклу.

Апаратура:

1. Склянки для вимірювання густини, внутрішній діаметр - 48мм, висота 110мм

2. Магніти довжиною приблизно 30мм

3. Водяна баня (75°C) з магнітною мішалкою

4. Фольга або інший стійкий до дії температури матеріал

5. Піпетки або дозатори на 5 та 20мл

6. pH-метр

Реагенти:

1. 90-100% IPA

2. Розчин CaCl₂ (32г/л CaCl₂, 2H₂O)

3. 3,0M Na-ацетатний буфер.

Приготування буфера для 2літрів 3,0M натрій-ацетатного буфера pH 3,60:

81,64г Na-ацетату, 3H₂O розчиняли у мензурці, використовуючи приблизно 1200мл води іонообмінної води.

5 літрів: 204г Na-ацетату, 3H₂O, 772мл 100% оцтової кислоти.

pH для розчину складає 3,60+/-0,05. Якщо є сумніви щодо приготування, то необхідно перевірити значення pH.

Концентрація розчину пектину:

0,4%: зважували 0,64г зразка (нестандартизований пектин)

0,5%: зважували 0,80г зразка (стандартизований пектин)

Процедура:

1. Відважували зразок пектину у мензурку для вимірювання густини.

2. Додавали 5,0мл IPA.

3. Перемішували зразок за допомогою магнітної мішалки при доданні 130мл киплячої води (вище 85°C). Важливо, щоб мензурка для визначення густини була накрита (наприклад, за допомогою фольги) під час усього періоду перемішування.

4. Додавали 20мл 3,0 M Na-ацетатного буфера pH 3,60.

5. Перемішували зразок на водяній бані при температурі 75°C протягом мінімально 5 хвилин при використанні магніту. Якщо зразок містить глибки, то процедуру розчинення необхідно повторити.

6. Перемішували зразок у водовороті приблизно 2см. Додавали 5мл розчину кальцію (CaCl_2 , 2H₂O, 32г/л). Максимальний час додання складає 2 секунди. Перемішували зразок протягом приблизно 10 секунд.

Важливо:

Якщо водоворот зникає при доданні кальцію - та/або спостерігали локальну желатинізацію або утворення бульбашок, то зразок визначали як такий, що має попередню желатинізацію як результат аналізу. Якщо зразок піддавали вимірюванню пізніше як нормальний зразок, то одержаний результат буде значно нижчим. Можна потім проводити аналіз при більш низькій концентрації пектину.

7. Видаляли магніт та покривали мензурку, наприклад, фольгою.

8. Поміщали зразок у водяну баню при температурі 5°C протягом 19±3години. Забезпечували рівень води у водяній бані такий, що дорівнює рівню поверхні зразка.

9. Якщо на поверхні зразка присутні бульбашки повітря, то обережно видаляли їх перед проведенням вимірювання зразка. Вимірювали густину через 1 хвилину при температурі 5°C за допомогою віскозиметра LVT при використанні осі номер 2 при швидкості 60об./хв. Для зчитування значень, менших 10, на віскозиметрі вимірювання здійснювали з віссю номер 1. Для зчитування значень, вищих за 100, поміщали зразок при температурі 5°C на водяну баню протягом 19±3години. Потім вимірювали густину при використанні осі номер 3 при швидкості 60об./хв.

Використовували прийнятний коефіцієнт для підрахунку густини (сР - сантипуази). Значення CS є рівним підрахованій густині.

- Прозорість 1% розчину пектину - холодний розчин

Принцип:

Прозорість 1% розчину пектину визначали при використанні спектрофотометру.

Апаратура:

1. Мензурка на 250мл

2. 100% IPA

3. Магніт

4. Магнітна мішалка

5. Деіонізована вода

6. Вимірювальна склянка на 100мл

7. Піпетка

8. Спектрофотометр

Процедура:

1. Зважували 1г пектину у мензурку на 250мл.

2. Змочували його за допомогою 3мл IPA.

3. Поміщали магніт у мензурку.

4. Поміщали мензурку на магнітну мішалку.

5. Додавали 96мл деіонізованої води при перемішуванні.

6. Перемішували до розчинення пектину

7. Вимірювали коефіцієнт пропускання або абсорбції на спектрофотометрі при довжині хвилі 655нм.

8. Представляли результати як %T (пропускання) або % Abs (абсорбції).

- Визначення залишкового цукру у шкірці

Мета:

Визначення залишкового цукру у шкірці здійснювали шляхом промивання за допомогою 50% ізопропанолу.

Апаратура:

1. Скляна мензурка на 600мл

2. Ваги (точність 0,2г)

3. Магнітна мішалка

4. Магніт

5. Паперові фільтри (шорсткі), наприклад, типу AGF 614

6. Висушувальна камера з температурою 65-70°C

7. Воронка Бюхнера

8. Вакуумний насос

Розчини:

Ізопропанол, 50%

Процедура:

1. Зважували 10г зразка шкірки у скляній мензурці на 600мл.

2. Додавали 200мл 50% ізопропанолу.

3. Перемішували протягом 4годин на магнітній мішалці.

4. Промивали шкірку та фільтрували з 250мл 50% ізопропанолу.

5. Поміщали фільтр та зразок у висушувальну камеру при температурі 65-70°C протягом ночі та зважували.

Підрахунок залишкового цукру у шкірці, %:

$\{(SS \times 10) - (net \times 95)\} \times 100 / (SS \times 10)$, де

SS = Процент сухої речовини перед промиванням та висушуванням

Net = Вага промитої та висушеної шкірки

95 = Встановлення проценту сухої речовини у промитій та висушеній шкірці

- Визначення pH у пектинах високої молекулярної ваги (HM) та низької молекулярної ваги (LM) - холодний розчин

Принцип:

Значення pH визначали в 1% холодному приготвленому розчині пектину.

Матеріали:

1. Мензурка на 250мл

2. 100% IPA

3. Магніт

4. Магнітна мішалка

5. Деіонізована вода

6. Піпетка

7. pH-метр

Процедура:

1. Зважували 1г пектину у мензурці на 250мл.
2. Змочували його за допомогою 3мл IPA.
3. Поміщали магніт у мензурку.
4. Поміщали мензурку на мішалку.
5. Додавали 95г деіонізованої води.
6. Перемішували до розчинення пектину.
7. Калібрували рН-метр за допомогою буферних розчинів з рН 7,00, що приготовлений з гідрофталату натрію та гідрофосфату динатрію, та з рН 4,01, приготовленого з гідрофталату калію, відповідно, при температурі при 25°C. Обидва буфери повинні бути розчинені у воді, що досягається за допомогою зворотного осмосу, після чого проводять подвійний іонний обмін. Після цього вимірювали значення рН пектинового розчину при 25°C.

- Визначення втрати ваги при висушуванні НМ-та LM-пектину

Принцип: Втрата ваги при висушуванні визначається шляхом висушування відомої кількості пектину протягом 2годин при температурі 105°C у камері для висушування.

Апаратура:

1. Камера для висушування з температурою 105°C

2. Мензурка для дослідження

3. Аналітичні ваги

4. Камера для висушування

Процес:

1. Висушували мензурку для дослідження протягом, принаймні, 30 хвилин при температурі 105°C. Охолоджували мензурку для дослідження в камері для висушування та зважували її.

2. Переносили відому кількість, наприклад, 2,000г, пектину у мензурку для дослідження.

3. Поміщали мензурку для дослідження пектину у камеру для осушення при температурі 105°C на 2години.

4. Охолоджували мензурку для дослідження з пектином у сушильній шафі та зважували її.

Підраховували втрату ваги при висушуванні:

$\% \text{ втрати ваги при висушуванні} = \left\{ \frac{(\text{г невисушеного пектину} - \text{г висушеного пектину})}{(\text{г невисушеного пектину})} \right\} \times 100$

- Визначення активності рослинної естерази

Принцип:

Гідроліз метил-естеразних зв'язків у пектині при постійному значенні рН. Потребу в стандарт-титрі визначали як функцію часу та активності. Таким чином: одна одиниця = молів деметильованих карбоксильних груп за хвилину.

Апаратура:

1. Аналітичні ваги (точність 0,1г)
2. Водяна баня при 5°C.
3. Секундомір
4. рН-метр
5. Двигун для перемішування, переносний, 50-2000об./хв.

6. Центрифуга

7. Виробничий змішувач

8. Титратор

Хімічні реактиви та розчини:

1. Хлорид натрію аналітичної марки.
2. Гідроксид натрію аналітичної марки.
3. Гідрокарбонат натрію аналітичної марки.

4. Іонообмінна вода з кондуктивністю, нижче 1мс/см.

5. 0,0625М гідрокарбонату натрію

6. 1М гідрокарбонат натрію

Процедура:

1. Подрібнюють шкірку.

2. Зважують 50,0г шкірки та переносять її в пластикову мензурку на 2,0л.

3. Додають іонообмінну воду до зручної консистенції.

4. Додають хлорид натрію до одномолярної концентрації.

5. Доводили значення рН до 6,0 за допомогою 0,5М гідроксиду натрію.

6. Поміщали пластикову мензурку на водяну баню при температурі 5°C та повільно перемішували протягом 2 годин. Коригували значення рН кожні півгодини.

7. Центрифугували масу при 9000об./хв. протягом 30 хвилин.

8. Відновлювали супернатант для визначення активності рослинної естерази.

9. Пектиновий розчин готували шляхом розчинення 20,0г пектину з цитрусових, що має значення DE 72%, та 23,4г хлориду натрію у 700мл киплячої іонообмінної води шляхом перемішування у виробничому змішувачі протягом 3-4 хвилин.

10. Охолоджували розчин пектину до кімнатної температури та доводили точну масу до 1000г.

11. Нагрівали 100,0г пектинового розчину до температури 60°C.

12. Доводили значення рН пектинового розчину до 5,50 за допомогою 1М розчину гідрокарбонату натрію та негайно додавали 5мл вказаного вище супернатанту. Кількість супернатанту може бути більшою, ніж 5мл, або меншою, ніж 5мл, в залежності від наявної естеразної активності у супернатанті.

13. Починали титрування за допомогою 0,0625М гідрокарбонату натрію та реєстрували криву титрування.

14. Визначали нахил (р) лінійної частини кривої титрування.

15. Підраховували активність рослинної естерази як одиниць/мл = $r \times 62,5$ /мл супернатанту.

Спосіб визначення наявності кислотної обробки вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу:

Одним із способів визначення, чи є вихідний пектинвмісний рослинний матеріал обробленим підкисленою водою, є застосування наступного досліді для визначення рН вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу. Цей аналіз використовується для вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу, який має значення рН, вище 4. Прикладами такого вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу є апельсин, грейпфрут, кормовий буряк, цукровий буряк, яблука та морква. Для вихідного пектинвмісного рослинного матеріалу, що має значення рН 4 або нижче, можуть використовуватися інші способи визначення, чи був вихідний пектинвмісний рослинний матеріал оброблений підкисленою водою.

Коли піддають аналізу суху шкірку, то одержують 10грамів (10г) зразка та переносять зразок у мензурку. Коли досліджується волога шкірка, то

підвищують кількість зразка до п'ятидесятиграмів (50г).

Додають 150мл деіонізованої або дистильованої води до мензурки.

Перемішують суміш шкірка/вода протягом 15 хвилин при використанні бруска для магнітного перемішування при кімнатній температурі.

Через 15 хвилин вимірювали значення рН. Бажано, коли рН вимірюється при використанні рН-метра, такого, як рН M290 (постачається Radiometer), оснащеного електродом, таким, як РНС2401-8 (постачається Radiometer)

Наприклад, висушений вихідний рослинний пектинвмісний матеріал, що демонструє значення рН, нижче 5, буде показовим для матеріалу, обробленого підкисленою водою, бажано, коли висушений вихідний рослинний пектинвмісний матеріал демонструє значення рН, нижче приблизно 4,4, більш бажано нижче приблизно 4,0, ще більш бажано, коли демонструє значення рН від 4,0 до 3,5.

Приклади

Наступні приклади пропонуються для ілюстрації, але не для обмеження, даного винаходу

- Порівняльний приклад

Цей приклад повторює процес обробки шкірки апельсинів, як це розкрито у [US 2,387,635 (Bailey, H.S.)].

8 літрів роздрібненої шкірки апельсинів (вимірювали шляхом витіснення) додавали до 4,67 літрів киплячої води. Додавали певну кількість 62% азотної кислоти для забезпечення значення рН у межах від 2,8 до 3,6 при нагріванні. Виявлялося, що кількість приблизно 80мл 62% азотної кислоти забезпечує значення рН 3,4 при перемішуванні. Відносно висока кількість кислоти, необхідна для зниження рН, пояснюється відносно високою буферною здатністю свіжої шкірки та низькою кількістю доданої води. Через 10 хвилин масу охолоджували та шкірку відокремлювали на ситі. Шкірку потім ущільнювали при використанні гідравлічного пресу, та спресовану шкірку розподіляли тонким шаром на декількох піддонах та висушували при температурі 70°C в осушувальній камері при атмосферному тиску.

500г висушеної шкірки послідовно екстрагували згідно зі способом „Екстракція пектину”, а одержаний пектин маркували як Порівняльний Приклад 1.

Результати:

Зразок	Цукор, %	HNO ₃ при екстракції, мл	рН екстракту при 25°C	Осаджений екстракт, г	Пектин	Вихід, г/л	Активність рослинної естерази, одиниці/г
Порівняльний приклад 1	49,0	60	1,76	12725	79,20	6,22	0

Зразок	SAG	Вихід, %	Чистота пектину, %	DE, %	GA, %	M _w	TS, %	PH 1%	T*, %
Порівняльний приклад 1	177°	18,7	97,7	67,9	78,6	82000	96,4	3,36	68,3

*: Прозорість

З цього прикладу очевидно, що спосіб, який використовується у [US 2,387,635], забезпечує матеріал цитрусових з високим вмістом цукрів. Таким чином, спосіб, описаний в [US 2,387,635] не забезпечує ефективного видалення цукрів зі шкірки апельсинів. Крім того, високий вміст цукрів у шкірці приводить до зниження виходу пектину. При дослідженні одержаного пектину виявляється, що USA SAG є низьким, і таким чином, знижується його молекулярна вага. Це показує, що пектин

деполімеризувався під час послідовного нагрівання суспензії шкірка апельсинів/вода. На завершення приклад показує, що при нагріванні суспензії шкірка апельсинів/вода до температури приблизно 90°C активність рослинної естерази повністю усувається.

Приклад 1

У цьому прикладі обробку кислотою проводили при кімнатній температурі та з великою кількістю води.

Зразок	SAG	Вихід, %	Чистота пектину, %	DE, %	GA, %	M _w	TS, %	рН 1%	T*, %
Приклад 1	213°	29,9	94,9	63,7	83,2	101000	96,3	3,34	87,5

*: Прозорість

Приклад показує, що, коли застосовують спосіб згідно з даним винаходом, у промитій кислотою шкірці залишається менше цукрів, і таким чином, вихід пектину значно підвищується. Крім того, промивання підкисленою водою викликає підвищення як USA SAG, так і молекулярної ваги у порівнянні з Порівняльним прикладом. Фактично, співвідношення USA SAG прикладу 1 у порівнянні зі значенням USA SAG порівняльних прикладів

складає 1,20. Таким чином, обробка шкірки апельсинів згідно з даним винаходом дає змоги досягти 20%-ного підвищення значення USA SAG. Згідно з цим співвідношення молекулярної ваги пектину, одержаного згідно з прикладом 1, та пектину, одержаного згідно з порівняльним прикладом, складає 1,23. Таким чином, молекулярна вага підвищується на 23%, коли шкірку апельсинів оброблюють згідно з даним винаходом.

Приклад 2

У цьому прикладі методику порівняльного прикладу повторювали зі свіжими апельсинами, безпосередньо зірваними з дерева. Проте цей приклад використовує пару замість киплячої води. Процедура є такою самою, що й та, яка описана у прикладі 1. Проте після трьохкратного промивання підкисленою водою слабо спресований залишок шкірки поміщали у воронку Бюхнера. До вихідного отвору воронки Бюхнера приєднували трубку, і

пару вводили у масу шкірки через трубку. Пропускання пари продовжували протягом 3 хвилин. За допомогою термопари вимірювали температуру всередині маси шкірки, її перевертали, коли було досягнуто температури 90°C через 2 хвилини пропускання пари. Після пропускання пари шкірку дали піддавали обробці, як описано у прикладі 1. Одержаний пектин мітили як „D”.

Результати:

Зразок	M _w	SAG	DE, %	Міцність на розрив		+Ca/-Ca
				Розрив -Ca	Розрив +Ca	
„D”	93800	205°	66	195	201	1,03

З повністю свіжою шкіркою апельсинів USA SAG було приблизно на 16% вищим, ніж для порівняльного прикладу. Подібно до цього молекулярна вага була приблизно на 14% вищою.

Приклад 3

Цей приклад базується на прикладі 1 за винятком того, що шкірка апельсинів, яка використовувалася, представляла собою шкірку апельсинів,

одержану згідно з прикладом 2. Таким чином, обробку проводили при кімнатній температурі, здійснювали трьохкратне промивання при pH 3,5, після чого проводили висушування. Суху шкірку екстрагували таким же способом, що й ті, які були описані у прикладах 1 та 2.

Результати:

Зразок	M _w	SAG	DE, %	Міцність на розрив		+Ca/-Ca
				Розрив -Ca	Розрив +Ca	
„C”	116900	229°	68	156	185	1,19

Цей приклад показує, що промивання підкисленою водою приводить до підвищення як USA SAG, так і молекулярної ваги у порівнянні з порівняльним прикладом. Фактично, співвідношення USA SAG прикладу 3 у порівнянні з прикладом 2 складає 1,12. Таким чином, обробка шкірки апельсинів згідно з даним винаходом дає змоги досягти 12%-ного підвищення значення USA SAG. Згідно з цим співвідношення молекулярної ваги пектину, одержаного згідно з прикладом 3, та пектину, одержаного згідно з прикладом 2, складає 1,25. Таким чином, молекулярна вага підвищується на 25%, коли шкірку апельсинів оброблюють згідно з даним винаходом. Так, без залежності від свіжості апельсинів даний винахід забезпечує суттєве підвищення як USA SAG, так і молекулярної ваги одержаного пектину.

Приклад 4

Даний винахід здійснювали у 1000-кратному об'ємі, а процес проводили протягом декількох днів. Таким чином, свіжу шкірку промивали водою під час чотирьохетапного протитоккового процесу. Одержане значення pH порівняльних прикладів варіювало від 4,5 до 5,2. Для промивання підкисленою водою значення pH коригували до 3,4-3,6. Обробку проводили при температурі 30°C. Після промивання шкірку піддавали процесу безперервного висушування.

Зразки відбирали під час дослідів, ці зразки екстрагували після використання способу згідно з прикладом 1.

Результати:

Обробка	SAG	Міцність на розрив		+Ca/-Ca
		-Ca	+Ca	
Свіжа вода (для порівняння)	228°	151	121	0,80
Свіжа вода (для порівняння)	232°	180	131	0,73
Свіжа вода (для порівняння)	234°	133	110	0,83
Промивання підкисленою водою (Приклад)	240°	151	143	0,95
Промивання підкисленою водою (Приклад)	235°	254	239	0,94
Промивання підкисленою водою (Приклад)	224°	171	168	0,98
Промивання підкисленою водою (Приклад)	228°	239	246	1,03
Промивання підкисленою водою (Приклад)	235°	202	193	0,96
Промивання підкисленою водою (Приклад)	238°	184	209	1,14

При використанні свіжої або підкисленої води значення SAG відрізняються не дуже сильно. Проте, перевіряючи співвідношення між міцностями на розрив, одержаними з доданням або без додання кальцію, шкірка, оброблена свіжою водою дає пектин зі співвідношенням, нижчим 0,83. Шкірка, промита підкисленою водою, забезпечує одержання пектину, що має співвідношення, яке вище 0,94. Це показує, що шкірка, оброблена підкисленою водою дає пектин з суттєво нижчою чутливістю до кальцію. Фактично гелі, що містять кальцій, та які виготовлені з пектину, одержаного шляхом промивання шкірки свіжою водою, демонструють ясне підтвердження попередньої желатинізації, у той час, як це явище не спостерігається у відповідних гелях, виготовлених з пектину, який був промитий підкисленою водою.

Приклад 5

Цей приклад представлений для демонстрації впливу температури промивання підкисленою водою на висушену шкірку та одержаний пектин.

Використовували приблизно 25кг свіжої шкірки апельсинів. Шкірку зрізали та піддавали обробці так, як було описано вище.

У порівняльному прикладі 5 одну третину шкірки тричі промивали без додання кислоти. рН води для промивання вимірювали до значення рН 5,18.

Шкірку, що залишилася, обробляли підкисленою водою, при цьому на останньому етапі суміш нагрівали до різних температур.

Промивання підкисленою водою

Шкірку перемішували протягом 15 хвилин при кімнатній температурі з трьома об'ємами води. Значення рН доводили до 3,5 за допомогою азо-

тної кислоти, а потім шкірку відокремлювали на піддон для висушування. Забезпечували додання кислоти до води перед внесенням шкірки.

Шкірку слабо пресували на гідравлічному пресі для видалення надлишку підкисленої води. Намагалися забезпечити уникнення роздавлення шкірки.

Шкірку повторно закладали у другу серію трьох об'ємів води та значення рН доводили до 3,5. Суміш шкірки і підкисленої води перемішували протягом додаткових 15 хвилин. Шкірку розподіляли на піддоні для висушування.

Шкірку пресували так, як і на попередньому етапі.

Шкірку розділяли на дві (2), рівні за розмірами частини.

Процедуру повторювали тричі з трьома об'ємами води та значенням рН, доведеним до 3,5. Значення рН реєстрували перед відокремленням шкірки на піддон для висушування. На третьому та заключному етапі промивання шкірки водою використовували різні температури. У прикладі 5a промивання проводили при температурі 25°C. У прикладі 5b промивання проводили при температурі 65°C.

В усіх прикладах шкірку спресовували при використанні гідравлічного пресу для видалення надлишку води. Спресовану оброблену шкірку розподіляли на декілька піддонів для висушування. Спресовану оброблену шкірку потім висушували в камерах для висушування при температурі приблизно 70°C та при наявності достатнього потоку повітря протягом ночі (приблизно 15годин) до тих пір, поки її не вважали «сухою»

Таблиця 5.1

Приклад	Вода (л)	рН	рН шкірки
Порівняльний Пр.5	60	5,18	6,25
Приклад 5a	30	3,45	3,94
Приклад 5b	30	3,47	3,76

Усі зразки екстрагували при використанні модифікованого стандарту екстракції НМ пектину у резервуарах на 50літрів: (2,5години, 75°C, 1000г шкірки, 40літрів води, рН 1,9-2,1).

Після екстракції зразки фільтрували через діатомову землю піддавали іонообмінній хроматог-

рафії, використовуючи 50млсмоли (Amberlite SR1L від Rohm&Haas) налітр соку та осаджували 1:3 в 80% IPA, після цього проводили промивання у 60% IPA

Результати:

Таблиця 5.2

Приклад	HNO ₃ (мл)	рН екстрагованого соку. 25°C	Вага осадженого соку (г)	Вага пектину (г)	Вихід (г/л*)
Порівняльний приклад 5	80	2,06	10000	42	4,2
Приклад 5a	55	2,12	10000	41	4,1
Приклад 5b	55	2,07	10000	51	5,1

*Розведеного соку

Таблиця 5.3

Приклад	SAG	%DE	%GA	1%густ.	M _w	CS-99 + Ca
Порівняльний приклад 5	198	73,1	78,9	60	125203	270
Приклад 5a	214	74,2	79,0	52	146381	24
Приклад 5b	211	73,2	77,5	53	141683	27

Цей приклад демонструє, що спосіб за даним винаходом може бути здійснений при температурах від кімнатної до температури, принаймні, 65°C. Це зберігає низьке значення CS без зміни значення SAG.

Приклад 6

Повторювали процедуру прикладу 5.

У порівняльному прикладі 6 одну третину шкірки промивали тричі без додання кислоти. Значення pH води для промивання вимірювали до pH 4,89.

У прикладі 6a заключне промивання підкисленою водою здійснювали при температурі 25°C. У прикладі 6b заключне промивання підкисленою водою здійснювали при температурі 70°C.

Таблиця 6.1

Приклад	Вода (л)	pH	pH шкірки
Порівняльний приклад 6	60	4,89	5,21
Приклад 6a	30	3,75	3,98
Приклад 6b	30	3,72	3,91

Результати:

Таблиця 6.2

Приклад	HNO ₃ (мл)	pH екстрагованого соку. 25°C	Вага осажденного соку (г)	Вага пектину (г)	Вихід (г/л*)
Порівняльний приклад 6	80	2,04	10000	37	3,7
Приклад 6a	55	2,06	10000	52	5,2
Приклад 6b	55	1,93	10000	56	5,6

* Розведений сік

Таблиця 6.3

Приклад	SAG	% DE	%GA	1%густини	M _w	CS-99 + Ca
Порівняльний приклад 6	193	74,2	81,1	122	112751	285
Приклад 6a	212	74,4	80,3	91	140340	52
Приклад 6b	204	73,9	80,1	87	135520	68

Цей приклад демонструє, що спосіб за даним винаходом може бути здійснений при температурах від кімнатної до температури, принаймні, 70°C. Це зберігає низьке значення CS без зміни значення SAG.

Приклад 7

Цей приклад представлений для демонстрації впливу промивання підкисленою водою на висушену шкірку та одержаний пектин з цитрусових, відмінних від апельсинів, зокрема, грейпфрутів.

Одержували сік приблизно з 30кг грейпфрутів та подрібнювали шкірку як і у прикладі 5.

У порівняльному прикладі 7 подрібнену шкірку перемішували з трьома об'ємами води протягом 15 хвилин при кімнатній температурі. Значення pH води реєстрували через 15 хвилин перемішування та шкірку переносили на піддон для висушування.

Шкірку слабо пресували на гідравлічному пресі для видалення надлишку води. Намагалися забезпечити уникнення роздавнення шкірки.

Шкірку повторно закладали у другу серію трьох об'ємів води та перемішували протягом додаткових 15 хвилин при кімнатній температурі. Значення pH води реєстрували через 15 хвилин перемішування та шкірку переносили на піддон для висушування.

Цей етап промивання повторювали тричі.

Спресовану оброблену шкірку потім висушували в камері для висушування при температурі приблизно 70°C та при наявності достатнього потоку повітря протягом ночі (приблизно 15годин) до тих пір, поки її не вважали «сухою»

Промивання підкисленою водою

У прикладі 7 шкірку оброблювали так, як і у порівняльному прикладі 7, за винятком того, що шкірку промивали підкисленою водою, яка містить 9мл 62% HNO₃ при pH від 3,5 до 3,8. Проводили додання кислоти до води перед доданням шкірки для того, щоб бути впевненим, що шкірка не піддається дії концентрованої кислоти.

Таблиця 7.1

Приклад	Вода (л)	HNO ₃ (мл)	pH	Вага шкірки (г)
Порівняльний приклад 7, перше промивання	22	-	~4,2	-
Друге промивання	22	-	~5,7	-
Третє промивання	22	-	~6,2	523
Приклад 7, перше промивання	22	9+2	~3,6	-
Друге промивання	22	8+3	~3,5	-
Третє промивання	22	11+1		601

Усі зразки висушеної шкірки екстрагували при використанні наступного способу екстракції.

У невеликий пристрій для екстракції наливали 15літрів води при температурі 70°C. Потім додавали 500 грамів (500г) висушеної шкірки в екстрактор та значення pH води доводили до 1,7 шляхом додання 62% HNO₃. Можна додавати додаткову кількість кислоти в екстрактор через 15 хвилин, якщо необхідно підтримати значення pH. Екстракцію проводили при температурі 70°C та значенні pH 1,7 протягом 7годин.

Після екстракції зразки фільтрували через діатомову землю піддавали іонообмінній хроматографії, використовуючи 50млсмоли (Amberlite SR1L від Rohm&Haas) на літр соку та осаджували 1:3 в 80% IPA, після цього проводили промивання у 60% IPA. Одержаний пектин висушували в осушувальній камері та проводили визначення ваги одержаного пектину.

Результати:

Таблиця 7.2

Приклад	HNO ₃ (мл)	pH соку, 25°C	pH соку, 25°C після 1Некс.	Густина, 70°C, ер	Вага оса-дженого соку (г)	Вага пек-тину (г)	Вихід (г/л)	Час фільт-рації (хв.)
Порівн. При-клад 7	60	1,69	1,69	4,0	4530	23,17	6,8	40
Приклад 7	52	1,68	1,68	6,5	4705	28,23	8,0	40

Таблиця 7.3

Приклад	% Вихід	% R	% DE	% GA	M _w	SAG	1% pH	1% T	CS-99 -Ca	CS-99 +Ca
Порівн. Пр.7	20,5	98,2	60,7	86,2	99	220°	3,40	80,6	16,0	675,0
Пр.7	24,0	98,0	66,7	85,8	125	241°	3,46	84,1	18,5	342,5

Цей приклад демонструє поліпшення якості пектину, одержаного з обробленої висушеної шкірки грейпфрутів у порівнянні з пектином, одержаним з необробленої шкірки грейпфрутів.

Приклад 8

Цей приклад представлений для демонстрації ефекту промивання підкисленою водою на вису-

шену шкірку та одержаний пектин, отриманий з фруктів, відмінних від цитрусових, зокрема, яблук.

Одержували п'ятдесят (50)кг яблук (Belle de Boskoop).

Шкірку яблук готували так, як описано у Прикладі 7.

Таблиця 8.1

Приклад	Вага вологої шкірки (кг)	Вода (л)	HNO ₃ (мл) проми-вання 1 / pH	HNO ₃ (мл) проми-вання 2 / pH	HNO ₃ (мл) проми-вання 3 / pH	Вага сухої шкірки (кг)
Порівн. Пр.8	15,7	45	-/3,63	-/6,13	-/6,88	0,465
Приклад 8	16,5	50	0мл/3,81	22мл/3,78	22мл/3,79	0,564

Зразки екстрагували при використанні модифікованої стандартної екстракції високомолекулярного пектину, іонообмінної хроматографії, викори-

стовуючи 50млсмоли (Amberlite SR1L від Rohm&Haas) на літр соку та осаджували 1:3 в 80% IPA.

Результати:

Таблиця 8.2

Приклад	HNO ₃ (Nm)	Цукор, %	pH екстр. соку, 25°C	Вага осажденного соку (г)	Вага пектину (г)	Вихід (г/л*)
Порівн. Пр.8	60	1,80	1,75	4540	16,76	3,6
Приклад 8	49	2,02	1,75	7170	31,03	4,3

Таблиця 8.3

Приклад	SAG	% R	% DE	% GA	M _w	% TS	1% pH	CS-99 -Ca	CS-99 +Ca	BS +Ca	BS -Ca	% T
Порівн. Пр.8	176°	96,2	64,7	80,3	149316	96,7	2,96	12	105	*-	*-	64
Приклад 8	192°	98,4	65,8	83,2	165436	98,1	2,89	15	34	*107	*92	68

Цей приклад демонструє поліпшення якості пектину, одержаного з обробленої висушеної шкірки яблук, у порівнянні з пектином, одержаним з необробленої висушеної шкірки яблук. В результаті одержане високе значення M_w, вище значення SAG та нижче значення CS.

Приклад 9

У цьому прикладі повторювали процедуру прикладу 1 для рослини, тобто приклад 1 застосовували у 1000 кратній повторності. Одну партію оброблювали згідно з прикладом 1 кислотою, у той

час, як іншу партію оброблювали згідно з прикладом 1, проте, без етапу промивання кислотою. Послідовно висушену партію шкірки піддавали вимірюванню згідно з «Методикою для визначення впливу кислотної обробки на вихідний рослинний пектинвмісний матеріал». У доповнення визначали активність рослинної естерази в обох партіях згідно зі способом «Визначення активності рослинної естерази».

Результати:

Зразок	pH шкірки	Активність рослинної естерази, од./г
Кислотна обробка	4,03	41
Без кислотної обробки	4,44	15

Зразок	°SAG	% DE	% GA	CS-99 -Ca	BS +Ca	BS -Ca	BS+Ca/B S-Ca
Кислотна обробка	226	64,3	83,9	17	118	121	0,98
Без кислотної обробки	227	65,3	82,1	72	103	143	0,72

Цей приклад показує, що ферментативна активність в шкірці апельсинів зберігається під час кислотної обробки згідно з даним винаходом.

Крім того, цей приклад показує, що кислотна обробка згідно з даним винаходом приводить до одержання пектину з обробленої кислотою шкірки апельсинів, що є суттєво менш чутливим до кальцію, ніж пектин, одержаний з тієї самої шкірки апельсинів, що не була оброблена кислотою.

Більш низька чутливість до кальцію далі ілюструється тим фактом, що кислотна обробка приводить до більш високого співвідношення між міцністю на розрив геля, виготовленого з доданням іонів кальцію, у порівнянні з міцністю на розрив гелю без додання іонів кальцію.

Незважаючи на те, що даний винахід був описаний у деталях з метою повного розуміння, очевидно, що певні модифікації можуть бути зроблені у межах об'єму представлених пунктів формули.