

ROYAUME DU MAROC  
-----  
OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIÉTÉ (19)  
INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE  
-----



المملكة المغربية  
-----  
المكتب المغربي  
للملكية الصناعية والتجارية  
-----

## (12) FASCICULE DE BREVET

(11) N° de publication :  
**MA 35603 B1**

(51) Cl. internationale :  
**A23L 2/02; A23L 2/68;  
A23L 2/385**

(43) Date de publication :  
**01.11.2014**

---

(21) N° Dépôt :  
**36650**

(22) Date de Dépôt :  
**06.01.2014**

(30) Données de Priorité :  
**09.06.2011 EP 11004722.2**

(86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT :  
**PCT/EP2012/002157 21.05.2012**

(71) Demandeur(s) :  
**RUDOLF WILD GMBH & CO. KG, Rudolf-Wild-Strasse 107-115 69214 Eppelheim (DE)**

(72) Inventeur(s) :  
**HEIDEBACH, Thomas ; KELLER, Christine ; SASS, Matthias ; DE WITH, Axel**

(74) Mandataire :  
**SABA & CO**

---

(54) Titre : **PROCÉDÉ DE PRÉPARATION D'UN PRODUIT ALIMENTAIRE LIQUIDE CONCENTRÉ**

(57) Abrégé : Cette invention porte sur un procédé de préparation d'un produit alimentaire liquide concentré comprenant le traitement d'une solution ou d'un concentré ou d'un extrait de sucre ayant un Brix supérieur à 20°, comprenant une oxydase et une catalase de glucides sans ajuster le pH avant ou pendant le traitement par ajout de substances tampons ou de substances basiques, pour obtenir un produit alimentaire liquide concentré, le pH final étant inférieur à 3.

### الملخص

يتعلق هذا الاختراع بعملية لتحضير مادة غذائية سائلة مركزة تتضمن معالجة محلول سكر أو مادة مركزة أو مستخلص له Brix أكثر من 20°، مع كربوهيدرات أو أكسيداز وكاتالاز بدون تعديل الرقم الهيدروجيني قبل أو أثناء المعالجة بإضافة مواد منظمة أو مواد قاعدية، للحصول على مادة 5 غذائية سائلة مركزة، حيث يكون الرقم الهيدروجيني النهائي أقل من 3.

01 NOV 2014

35603

الوصف الكاملمجال الاختراع

يتعلق هذا الاختراع بعملية لتحضير مادة غذائية سائلة مركزة برقم هيدروجيني أقل من 3 من محلول أو مادة مركزة أو مستخلص له Brix أكثر من 20°.

خلفية الاختراع

5

يشارك التحول الإنزيمي للسكر إلى أحماض بمساعدة الكربوهيدرات أو أكسيداز والكاتالاز في كثير من التطبيقات التقنية، بالتحديد في صناعة الغذاء. في بعض التطبيقات يتم استخدام الكربوهيدرات أو أكسيداز لإزالة الأكسجين من منتج غذاء لحفظ جودته. وفي تطبيقات أخرى، يكون خفض محتوى السكر بمنتج الغذاء مطلوباً.

يشتمل التحول الإنزيمي للسكر إلى أحماض على تفاعل أكسدة/ اختزال، محفز بواسطة 10 كربوهيدرات أو أكسيداز، حيث به يعمل الأكسجين على هيئة مستقبل إلكترون. يتم اختزال الأكسجين إلى بيروكسيد هيدروجين ( $H_2O_2$ ): سكر +  $O_2$  ←  $H_2O$  + أحماض سكر +  $H_2O_2$ . يقوم إنزيم الكاتالاز بتحفيز التفاعل:  $H_2O_2$  ←  $H_2O$  +  $\frac{1}{2} O_2$ .

إذا كان إنتاج كمية كافية من الأحماض مطلوباً، تكون إضافة الكاتالاز ضرورية لإزالة 15 بيروكسيد الهيدروجين، التي تمثل مثبط للكربوهيدرات أو أكسيداز. يكون من المطلوب أيضاً إمداد وسط الاختزال بشكل متواصل مع الأكسجين لأن الأخير يتم استهلاكه بواسطة التفاعل. يمكن استخدام كمية من الأكسجين لتحديد فترة الاحتضان المثالية للعملية.

تكون كربوهيدرات أو أكسيداز التي تمت دراستها جيداً هي جلوكوز أو أكسيداز ( EC 1.1.3.4, GOX). يمكن إنتاج حمض الجلوكونيك عن طريق تحويل الجلوكوز إلى حمض جلوكونيك باستخدام 20 جلوكوز أو أكسيداز. يحدث ذلك عن طريق إنتاج جلوكونو-6-لاكتون في وسط مائي عندما يكون الأكسجين متوفراً. علاوة على ذلك، يتم إنتاج  $H_2O_2$  من التفاعل، حيث يثبط بشكل فعال GOX عند تركيزات منخفضة جداً بالفعل. ومع ذلك، يكون من المألوف استخدام GOC في توليفة مع الإنزيم كاتالاز (EC 1.11.1.6, CAT)، القادر على تحويل  $H_2O_2$  إلى  $H_2O$  والأكسجين (Miron et al., 2004, ) (Wong et al., 2008).

25 تفاعل GOX: جلوكوز +  $O_2$  ←  $H_2O$  + حمض جلوكونيك +  $2H_2O_2$  و CAT:  $H_2O_2$  ←  $H_2O$  +  $\frac{1}{2}O_2$

بسبب إنتاج الحمض، تم تقييد عملية التفاعل الإنزيمي بصفة عامة عن طريق خفض متتالي لقيمة الرقم الهيدروجيني، في النهائية تؤدي إلى تعطيل للإنزيم، وإن لم يتم إضافة مواد منظمة (Miron et al, 2004). بالتالي، في التطبيقات التقنية الحيوية لإنتاج إنزيمي لحمض جلوكونيك بواسطة CAT و GOX، يتم تثبيت الرقم الهيدروجيني بصفة عامة ضمن النطاق المثالي للنشاط الإنزيمي بإضافة المواد المنظمة أو المواد القاعدية لتحقيق أقصى معدلات نقل، على سبيل المثال، كما تم ذكره في الطلب الدولي -A-9635800 و -A-2214442-DE.

في معظم المشروبات الجاهزة للشرب (على سبيل المثال المشروبات السريعة، المشروبات المخمرة)، يكون محتوى الحمض بالإضافة إلى نسبة السكر إلى الحمض في نطاق ضيق محدد، لتحقيق انطباق حسي مقبول أو حتى مثالي. في حالة المشروبات الجاهزة للشرب، يمكن تحقيق نسبة السكر إلى الحمض المثالية عن طريق إنتاج كميات كافية من الحمض في ظل ظروف تفاعل مثالية بواسطة كربوهيدرات أو أكسيدات.

بالرغم من أن تركيزات الجلوكوز المعتدلة يتم استخدامها في كثير من تطبيقات GOX، تكون محاليل الجلوكوز عالية التركيز مناسبة كركائز أيضاً. في المشروبات المركزة، التي يمكن منها إنتاج المشروبات الجاهزة للشرب المذكورة أعلاه عن طريق تخفيف الماء، ناتج تركيز الحمض (بالإضافة إلى محتوى السكر وكل المكونات الأخرى) عدة مرات أعلى مقارنة بالمشروبات الجاهزة للشرب، مما يؤدي إلى رقم هيدروجيني أقل بكثير للمادة المركزة مقارنة بالمشروب الجاهز للشرب الناتج منها.

في ظل ظروف التفاعل المثالية الموصى بها (نطاق درجة الحرارة و/ أو رقم هيدروجيني موصى به)، لا يكون من الممكن توليد الكميات الكافية من حمض جلوكونيك المطلوب للمشروب المركز قبل قيمة الرقم الهيدروجيني بشكل منخفض جداً للحصول على نشاط إنزيمي إضافي. ولذلك، تلجأ تلك التطبيقات إلى إضافة محلول منظم أو مادة أساسية لحفظ الرقم الهيدروجيني للمادة المركزة ثابتاً وخلال نطاق النشاط الإنزيمي المثالي. في حالة المشروبات مع ذلك، لا يكون استخدام المحاليل المنظمة أو القواعد لحفظ الرقم الهيدروجيني خلال النطاق المثالي مناسباً في المعتاد بسبب التأثير الحسي السلبي المتاح.

بالنسبة لمستحضرات GOX التجارية، تكون ظروف التفاعل الموصى بها فيما يتعلق بالرقم الهيدروجيني في نطاق 4 إلى 7 pH، بشكل مستقل عن أصل الإنزيم. بالمثل، يمكن أن يختلف أي إنزيم آخر، GOX من أصول مختلفة في تركيبها وبالتالي ظروفها المثالية (Miron et al, 2004). يتم

- إنتاج GOX بشكل أساسي بواسطة أنواع أسبيرجيلوس أو بينسيليوم فرعية. يتم إنتاج كل مستحضرات GOX في الغالب المتوفرة في السوق بواسطة أسبيرجيلوس نيجير ( Handbook of Food Enzymology). بالنسبة لـ GOX من أسبيرجيلوس نيجير، تم اكتشاف أن الرقم الهيدروجيني لأقصى استقرار يكون في حدود 5.5 (Miron et al., 2004). عند pH أقل من 3، تم اكتشاف أن نصف عمر الأسبيرجيلوس نيجير التجاري GOX يكون أقل من 20 دقيقة في ظل ظروف التجربة (Hatzinikolaou et al., 1996). تم تقرير درجة الحرارة المثالية GOX من المصادر الميكروبية المختلفة تكون بين 25 درجة مئوية -60 درجة مئوية ( Gibson et al., 1964, Wong et al., 2008, Bankar et al., 2009). بالتالي، ويعتبر ذلك عادة هو الحالة التي تحول ظروف التفاعل بعيدا عن المثالي الذي يوقف التفاعل بالكامل تقريبا.
- 10 تصف براءات الاختراع المختلفة الاستخدام المجمع لـ GOX/CAT لإنتاج حمض جلوكونيك في المشروبات. على سبيل المثال، يصف الطلب الدولي-A-2010106170 استخدام GOX لإنتاج مشروب حمضي. أوصى المؤلفون أن تكون درجات حرارة التفاعل بين 25 درجة مئوية و 45 درجة مئوية وإضافة قاعدة لحفظ الرقم الهيدروجيني عند قيمة ثابتة مناسبة بين 3.0 و 9.0 لزيادة حصيله حمض جلوكونيك. تقترب 0017708-EP-A استخدام درجات حرارة تفاعل بين 0 درجة مئوية و 10 درجة مئوية لإنتاج حمض جلوكونيك باستخدام توليفة GOX/CAT غير متحركة. يؤكد مقدمو الطلب 15 أن قيمة الرقم الهيدروجيني يجب أن تبقى ثابتة ضمن المنطقة المثالية لـ pH 4-7، على سبيل المثال، بواسطة الإضافة التلقائية لـ NaOH أثناء العملية. يتعلق الطلب الدولي-A-24454/97 بإنتاج حمض جلوكونيك من جلوكوز. يوصي المخترعون أيضا بحفظ الرقم الهيدروجيني لمحلول جلوكوز عند حوالي 5 إلى حوالي 7. يصف الطلب الدولي-A-031635/03 تكوين جلوكونات كالسيوم عن طريق تحويل جلوكوز إلى حمض جلوكونيك في وجود قاعدة كالسيوم، مثل أكسيد كالسيوم، هيدروكسيد كالسيوم و/ أو كربونات كالسيوم، لمعادلة حمض جلوكونيك وليعمل على هيئة مصدر كالسيوم. بالتالي، تشمل العمليات المحمية في تلك التطبيقات على تفاعل في ظل ظروف نشاط إنزيمية مثالية، يتم تحقيقه عن طريق تنظيم الرقم الهيدروجيني لمنع التثبيط بسبب قيم pH المنخفضة. يصف الطلب الدولي-A-2009016049 طريقة لإعاقة تفاعلات الأكسدة في منتجات الغذاء عن طريق إنتاج 25 مالتوبيونات من النشا أو المالتوز بواسطة عملية إنزيمية. يتم تحويل المالتوز إلى مالتوبيونات في وجود كربوهيدرات أو أكسيدات، مثل ألدوز أو أكسيدات، سيلوبيوز أو أكسيدات، بيرانوز أو أكسيدات وهكسوز أو أكسيدات. علاوة على ذلك، يمكن إضافة الكاتالاز لإزالة H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> غير المرغوب فيها.

وفقا لذلك، يتمثل هدف ذلك الاختراع في التغلب على العيوب المذكورة أعلاه وفي توفير عملية لتحضير مادة غذائية سائلة مركزة بها كمية كافية من أحماض بدون إضافة مواد منظمة أو مواد قاعدية مضرّة بالمذاق، حيث تتحكم بالرقم الهيدروجيني أثناء عملية أكسدة السكر.

### الوصف التفصيلي للاختراع

5 يتم حل المشكلة المذكورة بواسطة عملية وفقا لعنصر الحماية 1 أو 3. يقدم الاختراع الحالي أيضا مادة غذائية سائلة مركزة وفقا لعنصر الحماية 16 وتركيبية جاهزة للشرب وفقا لعنصر الحماية 17.

يعتمد الاختراع الحالي على اكتشاف أنه عند استخدام كربوهيدرات أو أكسيداز وكاتالاز في إنتاج أحماض في مشروبات مركزة في ظل ظروف يتم تحويلها بعيدا عن ظروف نشاط الإنزيم المثالية فيما يتعلق بالرقم الهيدروجيني (على سبيل المثال، 2-3) ودرجة الحرارة (على سبيل المثال، 10 20-0 درجة مئوية) يكون الإنزيم لا يزال قادر أيضا على إنتاج أحماض بكميات كبيرة.

وقد طور المخترعون عملية لتحضير مادة غذائية سائلة مركزة برقم هيدروجيني أقل من 3، على نحو مفضل رقم هيدروجيني أقل من 2.5، بدون إضافة محلول منظم أو مواد قاعدية. تشمل عملية الاختراع الحالي على معالجة محلول سكر له Brix أكثر من 20° باستخدام كربوهيدرات أو أكسيداز وكاتالاز. 15

يتعلق تجسيد آخر من الاختراع الحالي بعملية لتحضير مادة غذائية سائلة مركزة تتضمن معالجة مادة مركزة من عصير سائلة على الأقل و/ أو مستخلص على الأقل من فواكه، توت، خضروات، أعشاب، جوز، توابل، فطريات، حبوب، أو منتجات محاصيل، المادة المركزة المذكورة أو مستخلص له Brix تبلغ أكثر من 20°، مع كربوهيدرات أو أكسيداز وكاتالاز، بدون تعديل الرقم الهيدروجيني قبل أو أثناء المعالجة بإضافة مواد منظمة أو مواد قاعدية للحصول على مادة غذائية 20 سائلة مركزة، حيث يكون الرقم الهيدروجيني النهائي أقل من 3.

تنتج "مادة مركزة من عصارة سائلة" بواسطة إزالة انتقائية للماء من عصارة حتى وصول كمية الماء المتبقية في المادة المركزة من 20 إلى 80% بالوزن بناء على العصارة المركزة السائل. يتم استخدام التعبير "مستخلص" بشكل تمثيلي لكل المنتجات التي تنتج عن طريق استخلاص باستخدام مذيب، مثلا باستخدام النقع أو الترشيح. ويتم الحصول على المادة المركزة أو المستخلص من فواكه، 25 توت، خضروات، أعشاب، جوز، توابل، فطريات، حبوب، أو منتجات محاصيل. تم تقديم أمثلتها أعلاه. يكون إنتاج عصارات مركزة سائلة هو ممارسة مألوفة ومعروفة جيدا لأحد المهرة في المجال.

ويمكن تنفيذها بواسطة أي عملية تؤدي إلى قيمة Brix أعلى للعصارة بعد العملية. وتكون أمثلة عمليات التركيز المألوفة هي الترشيح والتبخير. ويشير التعبير "عصارة مركزة سائلة" و"مستخلص" أيضا إلى مواد صلبة قابلة للذوبان تم استخلاص الماء منها، مواد مركزة من عصارة فاكهة، نواتج مزج وسحق.

- 5 يحتوي المحلول أو المادة المركزة أو المستخلص المستخدمة في عملية الاختراع الحالي على السكر. في سياق الاختراع الحالي، يشير التعبير "سكر" إلى تعبير عام للساكريدات بمذاق محلي، خلائط من الساكاريدات بمذاق حلو المذكورة ومحاليل مائية منها. تشمل المواد السكرية المناسبة على مالتوز، لاكتوز، جلوكوز، هكسوز، ساكاروز مركز مميأ، شراء سكر معكوس، شراب جلوكوز، سكر فاكهة طبيعي من عصارة فاكهة وعصارة فاكهة مادة مركزة (على سبيل المثال، Fruitup®).
- 10 يكون السكر المفضل هو الجلوكوز، اللاكتوز والهكسوز ومنها يفضل أكثر الجلوكوز.

في تجسيد مفضل في توليفة مع أي من التجسيديات أعلاه أو أدناه يحتوي المحلول المستخدم في الاختراع الحالي أيضا على مكون واحد على الأقل منتقى من المجموعة التي تتضمن فواكه، توت، خضروات، أعشاب، جوز، توابل، فطريات، حبوب (حببيات)، ومنتجات محاصيل.

- تكون الفواكه المناسبة، على سبيل المثال التفاح، وفواكه عشبة الألام، والكمثرى، والخوخ، البرقوق، المشمش، الدراق، العنب، الكرز، الليمون، الليمون، اليوسفي، اليوسفي، البرتقال، الجريب فروت، الطماطم، والخيار، والأناناس والرمان والكيوي والمانجو والبابايا، الموز، البطيخ، الشمام، البرتقال بلون الدم، الخروب، القشطة، الليمون الحمضي الكبير، فاكهة التنين، التين، الجوافة، قرع العسل، الكاكي، ليتشي، مانغوستين، البطيخ، ميرابل، الزيتون، الفلفل الحلو، فواعة، شانكة والكمثرى، واليقطين والسفرجل والثمرة النجمية.
- 15

- 20 يكون التوت المناسب هو، على سبيل المثال، التوت البري، الزبيب، التوت، عنب الثعلب، التوت الأسود، التوت الأزرق، الفراولة، الأكي، التوت الأروني، الكشمش الأسود، توت بوسين، البلسان، الجوجي، توت لينجون، التوت، الكشمش الأحمر، ثمر الورد، روان التوت، نبق البحر، برقوق السياج، توت الشجيرة الشانكة الأوروبية الآسيوية وتوت الخشب.

- تكون الخضروات المناسبة هي، على سبيل المثال، البطاطا، الخس، الكرفس، السبانخ، الملفوف، الجرجير، راوند، الجزرة، البنجر، والهليون، والشمندر، القرنبيط، والهندباء، الشمر، الفجل، الكراث، البصل، البازلاء والسبانخ.
- 25

تكون الأعشاب المناسبة هي، على سبيل المثال، الهندباء، الألوة فيرا، الشمر، الجنكو، كوم

الخضراء، الكركديه، الملوخية، المريمية، وأوراق الشاي.

يكون الجوز المناسب هو، على سبيل المثال، جوز الهند، الكستناء، اللوز، الكاجو، البندق، المكاديميا، الفول السوداني، البقان، الجوز والصنوبر، الفستق، الجوز.

تكون التوابل المناسبة، على سبيل المثال، القرفة، الزنجبيل، عرق السوس والفانيليا.

5 تكون الحبوب المناسبة هي، على سبيل المثال، الشعير، بذور الكتان، نخالة، الذرة، الدخن، الشوفان، الأرز، الجاودار، القمح، الذرة والشعير.

تكون منتجات المحاصيل المناسبة هي، على سبيل المثال، الفاصوليا، الكاكاو، كاسيا، القهوة، الجينسنج، غرنا، العسل، العدسات، لوتس، بذور الخشخاش، عباد الشمس، فول الصويا، والتمر الهندي.

10 تكون المكونات المناسبة الأخرى هي مستخلصات الماء والمعجنات، والأجزاء، والمساحيق والأجزاء المخمرة الناتجة من الفواكه، التوت، الخضروات، أعشاب الجوز، التوابل، الفطريات والحبوب الموصوفة أعلاه. تكون المكونات المفضلة هي الأعشاب، الحبوب المخمرة والفواكه المخمرة، ومنها الأكثر تفضيلاً هي الأعشاب.

15 في تجسيد مفضل في توليفة مع أي من التجسيديات أعلاه أو أدناه، يمكن إضافة مكون واحد على الأقل منتقى من المجموعة التي تتضمن فواكه، توت، خضروات، أعشاب، جوز، توابل، فطريات، حبوب (حبيبات)، ومنتجات محاصيل إلى المادة الغذائية السائلة المركزة بعد المعالجة باستخدام كربوهيدرات أو أكسيداز وكاتالاز.

20 في توليفة مع أي من التجسيديات أعلاه أو أدناه يكون للمحلول أو المادة المركزة أو المستخلص المستخدمة وفقاً للاختراع الحالي Brix تبلغ أكثر من 20°، على نحو مفضل Brix تبلغ على الأقل 25°، على نحو مفضل أكثر Brix تبلغ على الأقل 30°، وعلى النحو الأكثر تفضيلاً Brix تبلغ على الأقل 35°.

يشير التعبير "°Brix" (درجات Brix) إلى وحدة تمثل محتوى السكر بمحلول. تقابل درجة Brix واحدة 1 جرام من السكر في 100 جرام من المحلول وبالتالي تمثل تركيز السكر بالمحلول على كنسبة مئوية بالوزن (% وزن/ وزن). يتم قياس °Brix عادة بواسطة مقياس انكسار الأشعة.



في عملية الاختراع الحالي يتم معالجة المحلول أو المادة المركزة أو المستخلص باستخدام كربوهيدرات أوكسيداز. يشير التعبير "كربوهيدرات أوكسيداز" إلى مادة أكسدة واختزال حيث يكون بها تخصيص ركيزة للكربوهيدرات. تكون المواد المؤكسدة والمختزلة هي إنزيمات تحفز نقل الإلكترونات من أحد الجزيئات إلى آخر. تنتمي الأوكسيدازات لفئة الإنزيم من مواد الأكسدة والاختزال. ما لم يقترح خلاف ذلك، تكون الإنزيمات الموصوفة أدناه وفي جميع أنحاء الوصف عبارة 5 عن إنزيمات مفصلة باستخدام عامل مشترك، حسب الرغبة.

تكون أحد فئات مواد الأكسدة والاختزال، المناسبة للاستخدام في الاختراع الحالي، هي الكربوهيدرات أوكسيداز التي تحفز تفاعل الأكسدة/الاختزال الذي يتضمن جزيء الأوكسجين ( $O_2$ ) على هيئة مستقبل الإلكترون. في تلك التفاعلات، يتم اختزال الأوكسجين بالماء ( $H_2O$ ) أو بيروكسيد 10 هيدروجين ( $H_2O_2$ ).

على نحو محدد، تتفكك الكربوهيدرات أوكسيداز التي تحفز تحول الجلوكوز إلى جلوكونو-6-لاكتون مباشرة في الماء لتشكيل أحماض الدونية مقابلة. تولد العملية بيروكسيد هيدروجين. يكون حمض الدونيك عبارة عن أي حمض من عائلة الأحماض السكرية الناتجة عن طريق أكسدة مجموعة الألدريد الوظيفية بالدوز لتشكيل مجموعة حمض كربوكسيليك وظيفية. بالتالي، تكون صياغتها 15 الكيميائية العامة هي  $HOOC-(CHOH)_n-CH_2OH$ . تشمل أحماض الدونيك، على سبيل المثال، على حمض جلوكونيك.

تقوم إنزيمات الكربوهيدرات أوكسيداز بتحويل السكر في المحلول أو المادة المركزة أو المستخلص إلى أحماضها السكرية المقابلة. يكون عدد من الكربوهيدرات أوكسيداز المناسبة القادرة على تحويل السكر إلى أحماض السكر معروفا ومتوفرا للشخص الماهر. تكون أمثلة تلك 20 الكربوهيدرات أوكسيداز هي جلوكوز أوكسيداز (EC 1.1.3.4)، لاكتوز أوكسيداز، سيلوبيوز أوكسيداز (EC1.1.99.18)، بيرانوز أوكسيداز (EC1.1.3.10)، وهكسوز أوكسيداز (EC1.1.3.5). يفضل جلوكوز أوكسيداز، هكسوز أوكسيداز ولاكتوز أوكسيداز، ويفضل أكثر منها الجلوكوز أوكسيداز.

سوف تعتمد كمية الأوكسيداز التي سيتم استخدامها بصفة عامة على المتطلبات الخاصة وعلى 25 الإنزيم الخاص. تكون كمية الأوكسيداز الإضافية على نحو مفضل كافية لتوليد الدرجة المطلوبة من تحول سكر إلى حمضه خلال فترة زمنية محددة. نمطيا، تكون إضافة الكربوهيدرات أوكسيداز في النطاق من 500 إلى 50000 جزء بالمليون لكل كجم من السكر كافية، بالتحديد من 2000 إلى

20000 جزء بالمليون لكل كجم من السكر، وبتحديد أكثر من 5000 إلى 15000 جزء بالمليون لكل كجم من السكر.

في تجسيد مفضل في توليفة مع أي من التجسيديات المدرجة أعلاه أو أدناه، يكون نشاط كربوهيدرات أو أكسيداز من 1000 وحدة/ جم إلى 50000 وحدة/ جم، على نحو مفضل أكثر من 1650 وحدة/ جم إلى 10000 وحدة/ جم، بالتحديد 10000 وحدة/ جم. بالتحديد على نحو مفضل 5 يكون الإنزيم هو جلوكوز أو أكسيداز بنشاط من 1650 وحدة/ جم إلى 10000 وحدة/ جم.

يتم قياس نشاط الإنزيم بوحدة "وحدة/ جم"، حيث يتم تعريف 1 وحدة بكمية الإنزيم، التي تحول 1 ميكرومول من ركيزة بالدقيقة، أي 1 وحدة = 1 ميكرو مول/ دقيقة في ظل ظروف الترجبة القياسية، أي، ظروف مثالية فيما يتعلق بالرغم الهيدروجيني ودرجة الحرارة. ويكون قياس آخر للنشاط التحفيزي للإنزيم هو "كاتال"، 1 كاتال = 1 مول/ ثانية، 1 وحدة =  $10^{-9} \times 16.67$  كاتال. يشير 10 نشاط الإنزيم المقدم في هذه الوثيقة إلى نشاط مستحضرات إنزيم، حيث يتم خلط الإنزيم النقي مع مادة حاملة، مثل مالتوديكترين.

وفقا لعملية الاختراع الحالي يتم إضافة كاتالاز (EC 1.1 1.1.6) في توليفة مع أي من التجسيديات أعلاه أو أدناه. يتم إضافة الكاتالاز لمنع تقييد التفاعل الذي يعمل بواسطة الكربوهيدرات أو أكسيداز وإزالة  $H_2O_2$  غير المرغوب فيها في المنتج النهائي. كما تم وصفه أعلاه يعتمد 15 الكربوهيدرات أو أكسيداز على الأكسجين، ولكن ينتج بيروكسيد هيدروجين. تكون ميزة إضافة الكاتالاز إلى عملية الاختراع الحالي هي أنه يتم توفير الكربوهيدرات أو أكسيداز مع الأكسجين وفي نفس الوقت يتم إزالة البيروكسيد هيدروجين الذي له خواص أكسدة قوية.

في تجسيد مفضل في توليفة مع أي من التجسيديات المدرجة أعلاه أو أدناه، يكون نشاط الكاتالاز من 10000 وحدة/ جم إلى 100000 وحدة/ جم، على نحو مفضل أكثر من 16500 وحدة/ جم إلى 65000 وحدة/ جم، بالتحديد 25000 وحدة/ جم.

في أحد تجسيديات الاختراع، يتم إضافة الكربوهيدرات أو أكسيداز والكاتالاز في نفس الوقت. في تجسيد آخر، يتم إضافة الإنزيمات في أوقات مختلفة، على سبيل المثال، يتم إضافة الكربوهيدرات أو أكسيداز أولا وبعد فترة من الوقت يتم إضافة الكاتالاز. مع ذلك، في الحالة الأخيرة، يجب التعامل مع 25  $H_2O_2$  المتولد، الذي يمكن أن يضر بمادة المشروب السائل المركزة وأيضا أنشطة الإنزيم.

- في توليفة مع أي من التجسيديات أعلاه أو أدناه يتم إضافة الكاتالاز بكمية تقل من تركيز  $H_2O_2$  مقارنة بعملية مشابهة بدون الكاتالاز. على نحو مفضل، تكون كمية الكاتالاز المضافة إلى العملية كما تم وصفها في هذه الوثيقة، هي كمية تكون كافية للحصول على الأقل على 25%، 50%، 75%، 85% أو 95% انخفاض بكمية  $H_2O_2$  مقارنة بعملية مقارنة مقننة حيث يكون الاختلاف المقارن الوحيد هو عدم إضافة الكاتالاز، على نحو مفضل أكثر أيضا تكون كمية الكاتالاز المضافة إلى العملية كما تم وصفها في هذه الوثيقة، هي كمية كافية للحصول على 100% انخفاض بكمية  $H_2O_2$  مقارنة بعملية مقارنة مقننة، حيث يكون الاختلاف المقارن الوحيد هو عدم إضافة الكاتالاز. على نحو مفضل، يتم إضافة الكاتالاز بكمية تحسن أيضا من درجة تحول السكريات إلى أحماضها.
- سوف تعتمد كمية الأوكسيداز إلى كاتالاز التي سيتم استخدامها بصفة عامة على المتطلبات الخاصة وعلى نشاط الإنزيم الخاص (وحدة لكل جرام) بمستحضر الإنزيم المختار. ويمكن تحديدها 10 وتهيئتها على عملية الاختراع الحالي من قبل شخص ماهر في الفن. ويمكن أن تتغير أنشطة الإنزيم الخاصة لمستحضرات إنزيم مختلفة، ولكن في نطاق خاص حيث يمكن منه أي يستنتج شخص ماهر في المجال المعدلات المثالية لأوكسيداز وكاتالاز في جزء بالمليون لكل كجم من الركيزة (السكر). وعلى النقيض من تلك الخلفية، يجب أن تكون معدلات نشاط أوكسيداز وكاتالاز في النطاق من 1:1 إلى 100:1.
- 15 يتم إجراء معالجة المحلول أو المادة المركزة أو المستخلص في ظل ظروف تسمح للكربوهيدرات أو أكسيداز بتحويل السكريات إلى أحماض السكر. تشمل تلك الظروف على درجة الحرارة، الرقم الهيدروجيني، خواص الكربوهيدرات أو أكسيداز والكاتالاز.
- في تجسيد مفضل في توليفة مع أي من التجسيديات أعلاه أو أدناه، لا يتم تنظيم أو بصورة أخرى تعديل الرقم الهيدروجيني للمادة الغذائية السائلة المركزة أثناء العملية، على سبيل المثال، 20 بإضافة قلوي (قاعدة) أو مواد منظمة أثناء العملية أو على سبيل المثال، عن طريق إزالة الحمض الناتج جزئيا من وسط العملية.
- لا تتم إضافة المواد القابلة لمعادلة الحمض المنتج أثناء العملية الحالي، على سبيل المثال، لا يتم إضافة أي قواعد مثل  $Ca(OH)_2$ ،  $KOH$ ،  $NaOH$ ،  $Mg(OH)_2$ ،  $CaCO_3$ ،  $MgCO_3$ ،  $Mg(OH)_2$ ،  $Na_2CO_3$ ،  $K_2CO_3$  و  $CO_3(NH_4)_2$ ،  $NH_4OH$ ،  $NaHCO_3$ ،  $KHCO_3$  أثناء معالجة المحلول أو المادة 25 المركزة أو المستخلص باستخدام أوكسيداز وكاتالاز.

01 NOV 2014

لا تتم إضافة المواد القابلة لتنظيم الحمض المنتج أثناء العملية الحالية، على سبيل المثال، لا يتم إضافة أي مواد منظمة مثل محلول فوسفات صوديوم منظم، محلول كربونات منظم، محلول كبريتات منظم، محلول لاكتات منظم، ومحلول سيترات منظم قبل أو أثناء معالجة المحلول أو المادة المركزة أو المستخلص باستخدام كربوهيدرات أو أكسيداز وكاتالاز.

5 في توليفة مع أي من التجسيديات أعلاه أو أدناه، يمكن أن يحتوي المحلول أو المادة المركزة أو المستخلص الذي له Brix أكثر من 20°، أيضا على الماء، المادة المركزة من عصارة الفاكهة، مادة مثخنة، لون، مادة مثبتة، مادة مستحلبة، محليات، محليات بكثافة عالية، مستخلصات من نباتات طازجة أو مخمرة أو أجزاء من النباتات ومستخلصات من فواكه طازجة أو مخمرة، توت، خضروات، أعشاب، جوز، توابل، فطريات وحبوب. يمكن أن تنفذ على سبيل المثال، غرض اللون ومواد توفير النكهة.

10 وفقا للاختراع، يشير التعبير "نكهة" إلى تلك المنكهات المشتقة من الجزء المنتج الصالح للأكل من نبات بذور، بصفة خاصة نبات بلب محلي مرتبط بالبذور، على سبيل المثال، التفاح والبرتقال والليمون، الزيزفون. فإنه يشمل أيضا النكهات المستمدة من أجزاء النبات الأخرى من الفاكهة، على سبيل المثال، النكهات المستمدة من جوز، واللحاء والجذور والأوراق. ويشتمل أيضا ضمن هذا التعبير على مستحضرات النكهات الصناعية المحضرة لمحاكاة النكهات المستمدة من مصادر طبيعية. تشتمل أمثلة المنكهات على نكهات الكولا، نكهات الشاي، القرفة، البهارات والقرنفل ونكهات القهوة، بما في ذلك نكهات الحمضيات مثل البرتقال، اليوسفي، الليمون، الزيزفون ونكهات الجريب فروت. ويمكن أيضا استخدام مجموعة متنوعة من نكهات الفواكه الأخرى مثل التفاح والعنب والكرز والأناناس وجوز الهند وما شابه ذلك. يمكن استخدام عصارة فاكهة ثانية، بما في ذلك البرتقال، الليمون، اليوسفي، الليمون، التفاح والعنب كعامل منكه.

20 تكون المواد المثبتة المناسبة، الألوان، المحليات ومنكهات هي التفاح والفواكه العاطفة، والتوت البري، والكمثرى، والخوخ، والبرقوق، والشمش، النكتارين والعنب والكرز، الكشمش، التوت، عنب الثعلب، والتوت الأسود، التوت الأزرق والفراولة والليمون والجير، واليوسفي، اليوسفي، والبرتقال، والجريب فروت والبطاطا والطماطم والخس، والكرفس، والسبانخ، والملفوف، الجرجير، الهندباء، والراوند والجزر والبنجر والخيار، والأناناس وجوز الهند والرمان والكيوي

25 والمانجو والبابايا والموز والبطيخ والشمام أو الشاي. الشعير وبذور الكتان والنخالة والذرة والدخن والشوفان والأرز والشعير والقمح والذرة، والعدسات، والشعير، التوت، كرز هندي، الألوة فيرا، والتفاح، والشمش، التوت أرونيا، والهليون والموز والفول والبنجر والشمندر، الكشمش الأسود،

التوت الأسود والبرتقال بلون الدم، عنبية، توت بويزن، والقرنبيط، والملفوف، والكاكاو، والشمام، والخروب، والجزر، الكاسيا، الكرفس، الهندباء، القشطة، والكرز، والكستناء والقرفة والليمون وجوز الهند، والبن، والشاي، التوت البري، الخيار، الكشمش، فاكهة التنين، البلسان، الهندباء، الشمار، التين والزنجبيل وجنكو، الجينسنغ، جوجي، عنب الثعلب والعنب والجريب فروت وقرنبا، الجوافة، الكركديه، والعسل، قرع العسل والفجل، الكاكي، الكيوي، الكراث، الليمون، الخس، والجير، توت 5  
 ينجون، عرق السوس، لوتس، ليتشي، الملوخية، اليوسفي، اليوسفي والمانجو، مانغوستين، البطيخ، ميرابيللا، التوت، النكتارين، واللوز، والكاجو، والبندق، المكاديميا، والفاول السوداني، البقان، الصنوبر الجوز، الفستق والبطاطا والجوز والزيتون والبصل والبرتقال، والبابايا والفلفل الحلو والفواكه العاطفة، والبازلاء، والخوخ، والكمثرى، وفوقعة، الأناناس، البرقوق والرمان وبذور 10  
 الخشخاش، الاجاص، اليقطين، والسفرجل، والتوت، الكشمش الأحمر، راوند، المريمية، ثمرة الزهرة، روان التوت، والسبانخ، نبق البحر، برقوق السياج، وفول الصويا، الثمرة النجمية، الفراولة، عباد الشمس، والتمر الهندي واليوسفي والطماطم والفانيليا والجرجير والبطيخ والشجيرة الشائكة الأوروبية الآسيوية، وتوت الخشب.

على نحو مفضل، تبدأ العملية عند درجة حرارة من 10° إلى 30 درجة مئوية ويتم خفض 15  
 درجة الحرارة أثناء العملية إلى 0° إلى 10 درجة مئوية حالما يكون الرقم الهيدروجيني أقل من 4. يتم قياس الرقم الهيدروجيني عادة بواسطة مقياس pH.

أيضا يمكن حفظ درجة حرارة ثابتة بين 0° و30 درجة مئوية في جميع مراحل العملية. وتكون درجة الحرارة المثبتة المفضلة بين 1° و10 درجة مئوية، وتكون درجة الحرارة المثبتة أكثر تفضيلا بين 2° و6 درجة مئوية.

20 في عملية تحضير المادة الغذائية السائلة المركزة من الاختراع الحالي يمكن تنفيذ المعالجة عدة مرات. وبالتالي، يمكن إعادة معالجة المحلول أو المادة المركزة أو المستخلص باستخدام كربوهيدرات أو أكسيداز وكاتالاز عدة مرات، حتى يتم إنتاج كمية كافية من الحمض للوصول إلى رقم هيدروجيني أقل من 3، على نحو مفضل للوصول إلى رقم هيدروجيني أقل من 2.5.

يجب أن يسمح زمن معالجة مناسبة (احتضان) بدرجة تحول للسكريات إلى الأحماض محل الاهتمام. يكون من الممكن إجراء معالجة وحادة (احتضان) أو عدة معالجات للمحلول أو المادة 25  
 المركزة أو المستخلص باستخدام كربوهيدرات أو أكسيداز وكاتالاز. بصفة عامة، يتم اختيار زمن معالجة أحادية مناسبة (احتضان) في النطاق من 1 ساعة إلى 5 أيام، على نحو مفضل، من 10

ساعات إلى 4 أيام، على نحو مفضل أكثر من 36 ساعة إلى 3 أيام. بصفة عامة، يتم اختيار زمن المعالجات المتعددة المناسبة (الاحتضانات) في النطاق من 1 يوم إلى 21 يوم.

تتضمن عملية مفضلة بشكل خاص لتحضير مادة غذائية سائلة مركزة على معالجة محلول أو مادة مركزة أو مستخلص تتضمن جلوكوز وشاي، يكون للمحلول المذكور أو مادة مركزة أو مستخلص له Brix تبلغ 35° أو أعلى، مع جلوكوز أو أكسيداز وكاتالاز، بدون تعديل الرقم الهيدروجيني قبل أو أثناء المعالجة بإضافة مواد منظمة أو مواد قاعدية للحصول على مادة غذائية سائلة مركزة، حيث يكون الرقم الهيدروجيني النهائي أقل من 2.5.

يمكن تنفيذ العملية في ظل إمداد ثابت من الأكسجين عن طريق ضخ الهواء في المحلول أو المادة المركزة أو المستخلص الذي يتم معالجته. يمكن استخدام أي معدة ضخ هواء تقليدية.

10 يكون تنفيذ العملية في ظل أي توليفة من الظروف المذكورة أعلاه، أي، ظروف درجة الحرارة، محتوى سكر أولي من المحلول أو المادة المركزة أو المستخلص ومعالجات متعاقبة للمحلول أو المادة المركزة أو المستخلص باستخدام كربوهيدرات أو أكسيداز وكاتالاز، مقبولاً، طالما أن قيم تلك الكميات تقع في النطاقات الخاصة المذكورة أعلاه (على سبيل المثال، درجة حرارة 0-30 درجة مئوية، Brix تبلغ أكثر من 20°)، ويكون للمادة الغذائية السائلة المركزة الناتجة الحمضية المرغوب فيها للرقم الهيدروجيني أقل من 3. تكون التوليفات التي تؤدي إلى أزمنة احتضان قصيرة، وعملية 15 مبسطة فيما يتعلق بالخطوات المنفذة وفعالية من حيث التكلفة، مفضلة.

على نحو مفضل، تحتوي المادة الغذائية السائلة المركزة على مستنبتات بدء النشاط التي يتم استخدامها لأغراض التخمر. يكون المستنبت البادئ للنشط عبارة عن مستنبت حيوي دقيق يعمل ينفذ بالفعل التخمر. وتتكون تلك البوادي عادة من وسط استنبتات، مثل الحبوب، أو البذور أو السوائل المغذية التي تم استنساخها جيداً بواسطة كائنات دقيقة تستخدم للتخمر. يتم اختيار مستنبتات بدء 20 النشاط المناسبة من مجموعة عائلة لاکتوباسيلاسيا، بيفودوباكتيرياسيا، أسيتوباكتيرياسيا، ريزوبس، أسبيرجيلوس، كانديديا، جيوتريكوم، بينسيليوم وساكارومييسيس، حيث يفضل أنواع جلاكونوباكتير الثانوية من أسيتوباكتيرياسيا.

في تجسيد مفضل، في توليفة مع أي من التجسيديات المدرجة أعلاه أو أدناه، في العملية وفقاً للاختراع الحالي، يتم معالجة المادة الغذائية السائلة المركزة بتابعياً باستخدام مستنبت بادئ نشط 25 لأغراض التخمر. يتم اختيار مستنبتات بدء النشاط المناسبة من مجموعة عائلة لاکتوباسيلاسيا، بيفودوباكتيرياسيا، أسيتوباكتيرياسيا، ريزوبس، أسبيرجيلوس، كانديديا، جيوتريكوم، بينسيليوم

وساكارومييسيس، حيث يفضل أنواع جلاكونوباكتير الثانوية من أسيتوباكتيراسيا. على نحو مفضل أكثر يتم اختيار المستنبت البادئ النشط من مجموعة ساكارومييسيس. على نحو مفضل بشكل خاص يكون المستنبت البادئ النشط عبارة عن ساكارومييسيس الخباز.

يتمثل تجسيد آخر من الاختراع الحالي في المادة الغذائية السائلة المركزة يمكن الحصول عليها بواسطة عملية الاختراع الحالي.

5

يتمثل تجسيد آخر من الاختراع الحالي في تركيبة جاهزة للشرب يتضمن مادة مخففة والمادة الغذائية السائلة المركزة الناتجة بواسطة عملية الاختراع الحالي.

تكون المواد المخففة المناسبة هي الماء (بما في ذلك الماء المكرين)، عصارة فاكهة و/ أو مواد إضافية لمجموعة المواد المثبتة، اللون، المحليات، مكسبات السمك والمنكهات.

10 وفقا للاختراع الحالي، يشير التعبير "عصارة فاكهة" مناسبة على هيئة مادة مخففة إلى عصارة حمضية وغير-حمضية تتضمن عصارات الخضروات. يمكن أن تكون عصارة الفاكهة متوفرة على هيئة عصير مصنوع من، على سبيل المثال، التفاح، وفواكه زهرة الآلام، والتوت البري، والكمثرى، والخوخ، والبرقوق، والمشمش، النكتارين والعنب والكرز، الكشمش، التوت، عنب الثعلب، والتوت الأسود، التوت الأزرق والفاولة والليمون والجير، واليوسفي، اليوسفي، والبرتقال، والجريب فروت والبطاطا والطماطم والخس، والكرفس، والسبانخ، والملفوف، الجرجير، الهندباء، 15 والراوند والجزر والبنجر والخيار، والأناناس وجوز الهند والمان والكيوي والمانجو والبابايا والموز والبطيخ والشمام. يشير التعبير "عصارة فاكهة" أيضا إلى المياه المستخرجة من المواد الصلبة القابلة للذوبان، مادة مركزة من عصارة فاكهة ثانية، ناتج سحق وضغط.

يتمثل تجسيد آخر من الاختراع الحالي في استخدام المادة الغذائية السائلة المركزة الناتجة بواسطة عملية الاختراع الحالي لتحضير تركيبة جاهزة للشرب.

20

تصف الأمثلة التالية التجسيديت الخاصة بالاختراع الحالي.

### الأمثلة

#### المثال 1: معدل إنتاج حمض جلوكونيك عند درجات حرارة مختلفة

في هذا المثال، تمت معالجة عينات من 1 لتر خليط شاي محلي (Brix<sup>o</sup>40) باستخدام 1000

25 جزء بالمليون GOX (1650 وحدة/جم) و1000 جزء بالمليون CAT (16500 وحدة/جم) عند درجات حرارة مختلفة (40 درجة مئوية، 25 درجة مئوية و3 درجة مئوية، على التوالي). تم توفير

إمداد ثابت من الأكسجين عن طريق ضخ الهواء في المادة المركزة مع فريت هوائي زجاجي. يتكون خليط الشاي المحلى من المكونات التالية (وزن/ وزن):

شراب سكر معكوس (Brix°71.5): 55.2 %

ماء: 43.98 %

مستخلص شاي: 0.82 %

لم تتم إضافة أي مادة منظمة أو قاعدة إضافية.

توضح النتائج في الشكل 1 أن إنتاج الحمض المعدل، المعبر عنه بالانخفاض في الرقم

- 5 الهيدروجيني بالزمن، ينخفض بشكل كبير عند تحويل درجة الحرارة بعيدا عن الظروف المثالية لدرجة الحرارة بين 25 درجة مئوية و 40 درجة مئوية.

### المثال 2: معالجة متتالية باستخدام GOX و CAT عند 25 درجة مئوية

تمت معالجة عينة من Brix°40 خليط شاي محلى (تركيبية وفقا للمثال 1) باستخدام 1000

جزء بالمليون GOX (1650 وحدة/ جم) و 1000 جزء بالمليون CAT (16500 وحدة/ جم) على

- 10 التوالي 4 مرات. تم توفير إمداد ثابت من الأكسجين عن طريق ضخ الهواء في المادة المركزة مع فريت هوائي زجاجي وتم حفظ العملية بالكامل مستمرة عند 25 درجة مئوية. بعد الإضافة الأولى للإنزيمات، محتوى الأكسجين بالمادة المركزة المنخفض من أوليا 80-90% إلى حوالي 3-5% خلال ساعة واحدة. تمت إضافة كلا الإنزيمين كل 2-3 أيام، على التوالي. بالتالي، تمت إضافة كمية إجمالية 4000 جزء بالمليون من كل إنزيم. تم إيقاف العملية بعد 11 يوم، عند هبوط الرقم الهيدروجيني في
- 15 النهاية إلى 2.53 واكتشاف كمية نهائية 13.3 جم/ لتر من حمض جلوكونيك تحليليا.

### المثال 3: معالجة متتالية باستخدام GOX و CAT عند 3 درجة مئوية

تم تنفيذ تجربة مشابهة كما تم عرضها في المثال 2، مع اختلاف في أنه تم حفظ درجة

الحرارة عند 3 درجة مئوية أثناء العملية بالكامل. أدى التفاعل إلى رقم هيدروجيني نهائي 2.33، وتم

اكتشاف 26.3 جم/ لتر حمض جلوكونيك تحليليا بعد 11 يوم من الاحتضان. بالتالي، يؤدي تعديل

- 20 درجة الحرارة بعيدا عن الظروف المثالية الشائعة بشكل ملحوظ إلى زيادة كمية حمض الجلوكونيك الناتج عند حوالي 100 % والرقم الهيدروجيني المنخفض من المادة المركزة إلى أقل من 2.5.



**المثال 4: اختبار تجريبي لنبات**

يوضح المثال 4 اختبار تجريبي لنبات لإنتاج مادة غذائية سائلة مركزة. تم معالجة 25 كجم من Brix<sup>°</sup>40 خليط شاي محلي، (تركيبة وفقا للمثال 1) باستخدام 1000 جزء بالمليون GOX (1650 وحدة/جم) و1000 جزء بالمليون CAT (16500 وحدة/جم) على التوالي 4 مرات. تمت إضافة كلا الإنزيمين كل يومين، على التوالي. تم توفير إمداد ثابت من الأكسجين عن طريق ضخ الهواء في المادة المركزة بمعدل تدفق حجمي 3 لتر/ دقيقة. تم حفظ العملية بالكامل مستمرة عند 3 درجة مئوية بواسطة وعاء زجاجي معالج بجدران مزدوجة. تم إيقاف العملية بعد 11 يوم، عند وصول الرقم الهيدروجيني إلى 2.29 واكتشاف كمية نهائية 23.3 جم/ لتر حمض جلوكونيك تحليليا. يوضح الشكل 2 التغير في قيمة الرقم الهيدروجيني وتركيز حمض جلوكونيك أثناء العملية.

**المثال 5: المعالجة باستخدام GOX وCAT بفعالية عالية**

تم تخفيف مادة مركزة من عصير العنب التجاري (Brix<sup>°</sup>65) باستخدام ماء مقطر إلى Brix<sup>°</sup>40. تمت معالجة 800 جم من ذلك الخليط باستخدام 165 جزء بالمليون مستحضر GOX (Novozymes، Gluzyme 1000 BG، مع نشاط واضح 10.000 وحدة/جم) و660 جزء بالمليون مستحضر CAT (Novozymes، Catazyme 25L) بنشاط واضح 25.000 وحدة/جم). تم توفير إمداد ثابت من الأكسجين عن طريق ضخ الهواء في المادة المركزة مع فريت هوائي زجاجي وتم حفظ العملية بالكامل مستمرة عند 3 درجة مئوية لمدة 6 أيام. بعد 6 أيام، كان للمادة المركزة من عصير العنب رقم هيدروجيني حوالي 2.6 ويحتوي على حوالي 97 جم/ لتر حمض جلوكونيك. تم بسترة المادة المركزة عند 85 درجة مئوية لمدة 1 دقيقة لتعطيل نشاط بقايا الإنزيم. تم عرض تطور انخفاض الرقم الهيدروجيني وإنتاج حمض جلوكونيك أثناء العملية في الشكل 3.

**المثال 6: معالجة لاحقة للمادة الغذائية السائلة المركزة المعالجة إنزيميا باستخدام مستنبت تخمير****ميكروبي.**

تم تخفيف المادة المركزة المالحة الإنزيمية من المثال 5 بعد ذلك باستخدام ماء مقطر إلى Brix<sup>°</sup>35 وتسخينها إلى 28 درجة مئوية. بعد ذلك تمت إضافة مستحضر خميرة تجاري (SIHA - Aktiv Hefe 3، ساكاروميسيس الخباز Begerow) بتركيز 200 مجم/ لتر. بعد 30 ساعة من الاحتضان عند 28 درجة مئوية، تم خفض brix بمقدار 1.5 % إلى Brix<sup>°</sup>33.5 وتم إنتاج 1% بالحجم من إيثانول في المادة المركزة، بسبب التأثير الأيضي لمستنبت التخمير. بعد ذلك تم بسترة المادة المركزة المخمرة عند 85 درجة مئوية لمدة 1 دقيقة لتعطيل الخميرة.

تم تخفيف المادة المركزة من عصارة الفاكهة المخمرة مرة أخرى باستخدام ماء معدني إلى 4-8°Brix لتكوين تطوير لمشروبات من نوع محلي/ مالح سبريتزير بنكهة مخمرة لذيذة.

### الوثائق ليست براءات اختراع

Wong, C. M., Wong, K. H., Chen, X. D. (2008): Glucose oxidase; natural occurrence, function, properties and industrial applications, Applied Microbial Biotechnology; 78:927-938.

Bankar, S. B., Mahesh, V. B., Singhal, R. S., Ananthanarayan, L. (2009): Glucose oxidase - an overview; Biotechnology advances, 27:489-501.

Gibson, Q. H., Swoboda, B. E. P., Massey, V. (1964): Kinetics and Mechanism of Action of Glucose Oxidase; The Journal of Biological Chemistry, 239, 3927-3934

Miron J., Gonzales, M. P., Vasquez, J. A., Pastrana, L, Murado, M. A. (2004): A mathematical model for glucose oxidase kinetics, including inhibitory, deactivant and diffusional effects and their interactions. Enzyme and microbial technology 34:513-522.

Handbook of Food Enzymology, Eds.: Whitaker, J. R., Voragen, A. G. J., Wong, D., W., S. (2003), Marcel Dekker, New York, 425-432.

Hatzinikolaou, D. G., Hansen, O. C, Macris, B. J., Tingey, A., Kekos, D, Goodenough, P., Stou-gaard, A. (1996) New glucose oxidase from Aspergillus niger: characterization and regulation studies of enzyme and gene; Appl. Microbiol. Biotechnol. 46:371-381.

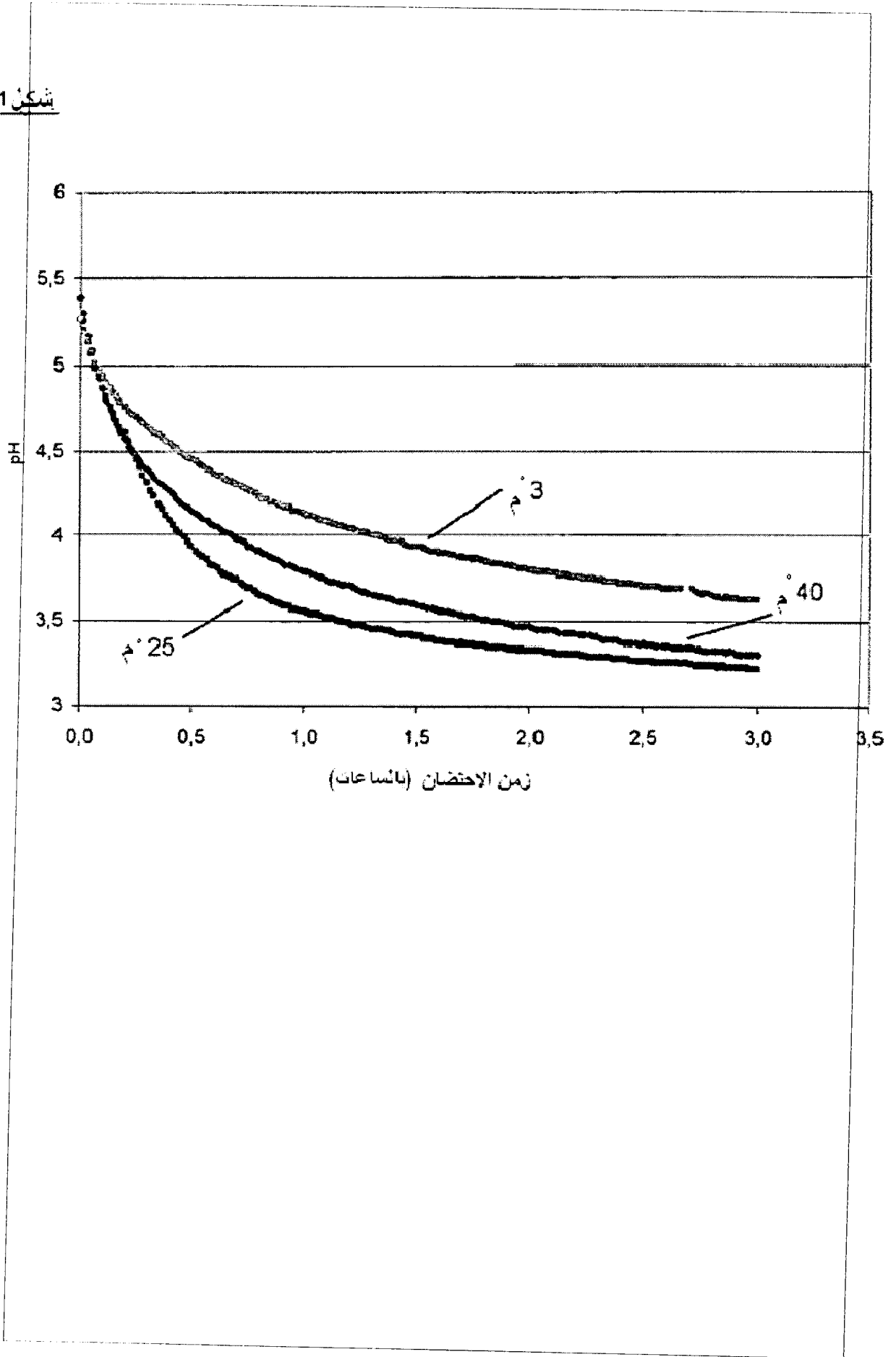
### العناصر الجديدة المطلوب حمايتها

- 1- عملية لتحضير مادة غذائية سائلة مركزة تتضمن معالجة محلول سكر له Brix أكثر من 20°، مع كربوهيدرات أو أكسيداز وكاتالاز بدون تعديل الرقم الهيدروجيني قبل أو أثناء المعالجة بإضافة مواد منظمة أو مواد قاعدية؛
- 5 للحصول على مادة غذائية سائلة مركزة، حيث يكون الرقم الهيدروجيني النهائي أقل من 3.
- 2- العملية وفقا لعنصر الحماية 1، حيث يشتمل المحلول أيضا على مكون واحد على الأقل منتقى من المجموعة التي تتضمن فواكه، توت، خضروات، أعشاب، جوز، توابل، فطريات، حبوب، ومنتجات محاصيل.
- 3- عملية لتحضير مادة غذائية سائلة مركزة تتضمن معالجة مادة مركزة من عصير سائلة على الأقل و/ أو مستخلص على الأقل من فواكه، توت، خضروات، أعشاب، جوز، توابل، فطريات، حبوب، أو منتجات محاصيل، المادة المركزة المذكورة له Brix تبلغ أكثر من 20°، مع كربوهيدرات أو أكسيداز وكاتالاز، بدون تعديل الرقم الهيدروجيني قبل أو أثناء المعالجة بإضافة مواد منظمة أو مواد قاعدية؛
- 10 للحصول على مادة غذائية سائلة مركزة، حيث يكون الرقم الهيدروجيني النهائي أقل من 3.
- 4- العملية وفقا لأي من عناصر الحماية السابقة، تتميز بأنه يتم اختيار الكربوهيدرات أو أكسيداز من المجموعة التي تتضمن جلوكوز أو أكسيداز، هكسوز أو أكسيداز ولاكتوز أو أكسيداز.
- 15 5- العملية وفقا لأي من عناصر الحماية السابقة، تتميز بأنه يكون للمحلول أو المادة المركزة أو المستخلص Brix تبلغ على الأقل 30°.
- 6- العملية وفقا لأي من عناصر الحماية السابقة، تتميز بأن درجة الحرارة أثناء المعالجة تكون بين 0° و 30 درجة مئوية.
- 20 7- العملية وفقا لأي من عناصر الحماية السابقة، تتميز بأن المعالجة تبدأ عند درجة حرارة من 10° إلى 30 درجة مئوية.
- 8- العملية وفقا لأي من عناصر الحماية السابقة، تتميز بأنه يتم خفض درجة الحرارة أثناء المعالجة إلى 0 إلى 10 درجة مئوية حالما يكون الرقم الهيدروجيني أقل من 4.
- 9- العملية وفقا لأي من عناصر الحماية السابقة، تتميز بأنه يشتمل المحلول المذكور أو مادة مركزة أو مستخلص أيضا على مركب وظيفي واحد على الأقل منتقى من المجموعة التي تتضمن مادة مثبتة، لون، مادة محلية ومادة منكهة.
- 25 10- العملية وفقا لأي من عناصر الحماية السابقة، تتميز بأنه يتم اختيار السكر من المجموعة التي تتضمن مالتوز، لاكتوز، جلوكوز، هكسوز، مادة مركزة من ساكاروز محلل مائيا، شراب سكر

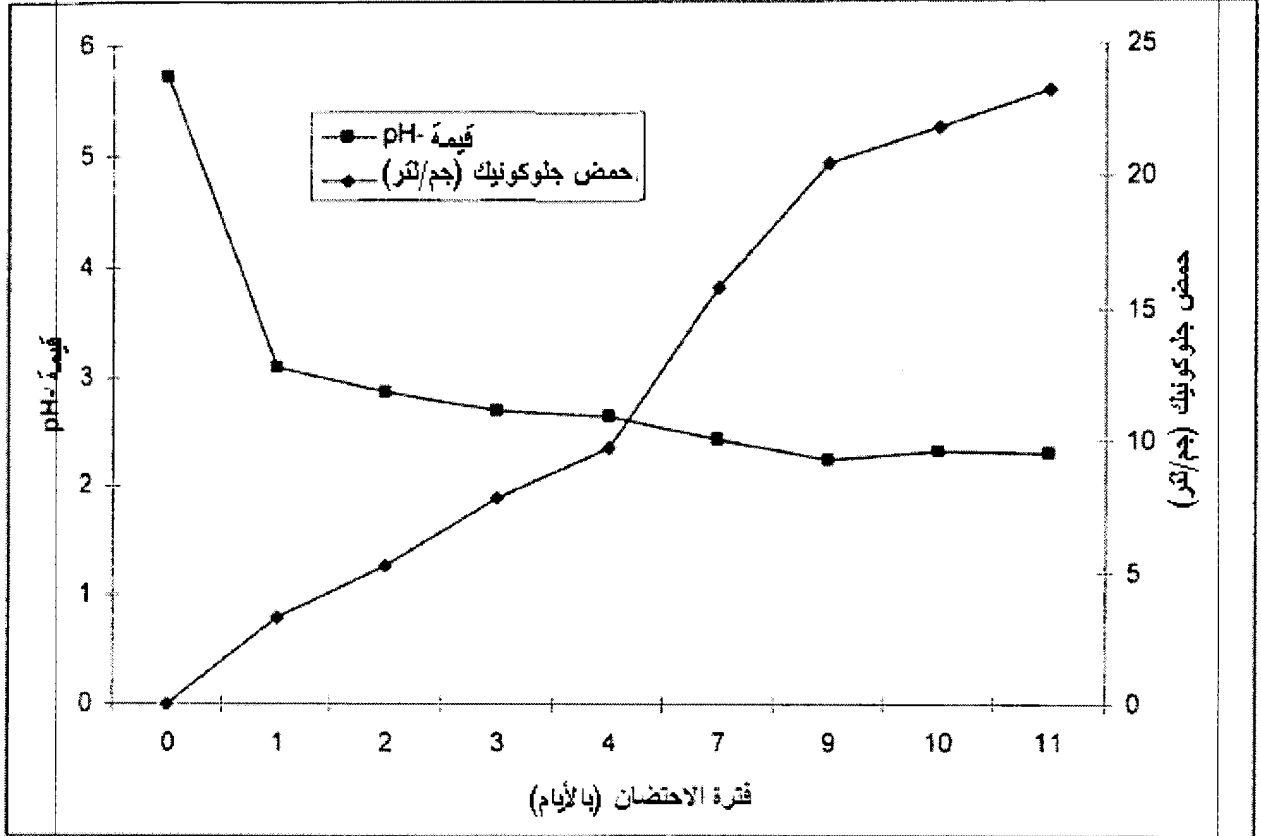
معكوس، شراب جلوكوز، سكر فاكهة طبيعي من عصارة فاكهة ومادة مركزة من عصارة فاكهة.

- 11- العملية وفقا لأي من عناصر الحماية السابقة تتميز بأن المادة الغذائية تتضمن مستنبت بادئ نشط.
- 12- العملية وفقا لأي من عناصر الحماية من 1 إلى 10 تتميز بأنه يتم معالجة المادة الغذائية السائلة المركزة تتابعيا باستخدام مستنبت بادئ نشط للتخمير.
- 13- العملية وفقا لعنصر الحماية 11 أو 12، تتميز بأنه يتم اختيار المستنبت البادئ النشط من 5 المجموعة التي تتضمن عائلة لآكتوباسيلاسيا، بيفودوباكتيرياسيا، أسيتوباكتيرياسيا، ريزوبس، أسبيرجيلوس، كانديديا، جيوتريكوم، بينسيليوم وساكارومييسيس.
- 14- العملية وفقا لأي من عناصر الحماية السابقة تتميز بأنه يكون نشاط كربوهيدرات أو أكسيداز من 1000 وحدة/ جم إلى 50000 وحدة/ جم.
- 15- العملية وفقا لأي من عناصر الحماية السابقة تتميز بأنه يكون نشاط الكاتالاز من 10000 وحدة/ جم إلى 100000 وحدة/ جم.
- 16- مادة غذائية سائلة مركزة يمكن الحصول عليها بواسطة العملية وفقا لأي من عناصر الحماية 1 إلى 15.
- 17- تركيبة جاهزة للشرب تتضمن مادة مخففة والمادة الغذائية السائلة المركزة وفقا لعنصر الحماية 15.
- 18- استخدام المادة الغذائية السائلة المركزة الناتجة بواسطة العملية وفقا لأي من عناصر الحماية من 1 إلى 15 لتحضير تركيبة جاهزة للشرب.

شکل 1



شكل 2



شكل 3

