



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator
dokumenta:



HR P921066 A2

HR P921066 A2

(12) PRIJAVA PATENTA

(51) MKP: (21) Broj prijave: P921066A
A23L 1/32 (2006.01) (22) Datum podnošenja prijave patenta: 16.10.1992.
A23L 1/015 (2006.01) (43) Datum objave prijave patenta: 30.04.1995.

(31) Broj prve prijave: P 40 13 367.2 (32) Datum podnošenja prve prijave: 26.04.1990. (33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: DE

(60) Podaci iz bivšeg SZP-a: ⁽²¹⁾P-514/91; ⁽²²⁾22.03.1991.

(71) Podnositelj prijave: **SKW Trostberg Aktiengesellschaft, Dr. Albert Frank Strasse 32, 8223 Trostberg, DE**
(72) Izumitelj: **Jan Cully, Lerchenstrasse 14, 8268 Garching/Alz, DE**
Heinz-Ruediger Vollbrecht, Graefin-Adelheid-Strasse 8, 8226 Altenmarkt, DE
(74) Zastupnik: **CPZ - CENTAR ZA PATENTE d.d., Zagreb, HR**
Hraste & Partneri odvjetničko društvo, Zagreb, HR

(54) Naziv izuma: **POSTUPAK ZA ODSTRANJIVANJE KOLESTEROLA IZ ŽUMANJKA JAJETA**

(57) Sažetak: Odstranjivanje kolesterola iz žumanjka jajeta izvodimo tako da

1. dodatkom vodene otopine amonijevog karbonata ili NaCl pripremimo razrijeđenu smjesu žumanjka jajeta;
2. razrijeđenu smjesu žumanjka jajeta pomiješamo s krutim apsorbensom ili kompleksirajućim sredstvom dok nije kolesterol apsorbiran odnosno kompleksiran, te zatim
3. kolesterolom obloženi kruti apsorbens ili kolesterolski kompleks odvojimo od smjese žumanjka jajeta i
4. zatim ponovno odstranimo amonijev karbonat odnosno NaCl i u danom primjeru vodu.

HR P921066 A2

Izum se odnosi na višestupanjski postupak za odstranjivanje holesterina iz žumanjka jajeta.

Holesterin i holesterinester, u daljnjem tekstu oba označena kao holesterin, su lipofilne tvari koje se nalaze u brojnim namirnicama životinjskog podrijetla, kao npr. u žumanjku jajeta, mesu, životinjskim masnoćama itd.

Povišene vrijednosti holesterina u krvnom serumu čovjeka predstavljaju kao što je poznato povećan rizični faktor za arteriosklerozu odnosno koronarno srčano oboljenje.

Smanjenjem dovoda holesterina moguće je u brojnim patološkim primjerima ponovo doseći normalne vrijednosti holesterina u krvnom serumu čovjeka. Iz tog razloga su stremljenja prehrambene industrije usmjerena na to da se postigne značajno smanjenje holesterina u namirnicama životinjskog podrijetla bogatim masnoćama.

Bitan problem pri tome je sačuvati osjetilne i prehrambeno fiziološke osobine namirnica.

U skladu sa stanjem tehnike je do sada postalo poznato niz postupaka za izolaciju holesterina premda te metode zbog kemijskih promjena sastojaka izlaznog materijala (poput proteina, triglicerida itd) nisu primjerene za smanjivanje sadržaja holesterina u namirnicama.

Srazmjerno prihvatljiv postupak koji je postao poznat u najnovije vrijeme, upotrebljava za odstranjivanje holesterina visokotlačnu ekstrakciju sa CO₂ (prim. V. Krukonis, Supercritical Fluid Processing, International Symposium on Supercritical Fluids, Nice, 1988).

Taj postupak se odlikuje fiziološkom neporečnosti ekstrakcijskog sredstva (CO₂) premda je postupak pri visokom tlaku tehnički vrlo zahtjevan. Pored toga se tim postupkom pri blagim uvjetima ne da selektivno odstraniti holesterin jer se pored njega ekstrahiraju i trigliceridi. Poboljšanje selektivnosti povećanjem temperature je u načelu sigurno moguće premda se to negativno odražava na vezivanje holesterina sa CO₂ i na kakvoću dobivenog produkta.

Najnoviji poznati postupak za odstranjivanje derivata holesterina predstavlja kompleksiranje tih tvari pomoću β-ciklodekstrina.

Tako npr. u smislu EP-A 326 469 žumanjak jajeta u prahu, nakon njegovog homogeniziranja s vodom, miješaju 5 sati sa β-ciklodekstrinom pri 40°C i dobiveni kompleks odvajaju centrifugiranjem. Na taj način može se smanjiti sadržaj holesterina premda svega maksimalno na 74% izlaznih vrijednosti.

U smislu postupka još neobjavljene njemačke patentne prijave P 39 28 258.9 dodaju β-ciklodekstrin isključivo plazmi žumanjka jajeta dobivenog iz žumanjka jajeta pomoću sredstva za razbijanje emulzije (vode) nakon odcentrifugiranja LDL-granulatne frakcije, zatim tako dooivenu plazmu žumanjka jajeta nakon odvajanja α-ciklodekstrina ponovno spoje s LDL-granulatnom frakcijom.

Odvajanje plazme žumanjka jajeta od LDL-granulatne frakcije i kompleksa β-ciklodekstrina s holesterinom u nekim slučajevima uzrokuje probleme.

Izum je zato zasnovan na težnji uspostavljanja postupka za odstranjivanje holesterina iz žumanjka jajeta koji ne bi imao navedenih manjkavosti stanja tehnike i omogućavao bi s neznatnim tehničkim troškovima i pri prihvatljivim uvjetima dalekosežno selektivno smanjenje tih tvari.

To smo u smislu izuma riješili postupkom koji je naznačen time da

1. dodatkom vodene otopine amonijevog karbonata ili NaCl pripremimo razrijeđenu smjesu žumanjka jajeta;
2. razrijeđenu smjesu žumanjka jajeta pomiješamo s krutim apsorbersom ili kompleksirajućim sredstvom dok se holesterin ne apsorbira odnosno kompleksira, te zatim
3. s holesterinom obloženi kruti apsorbers ili holesterinski kompleks odvojimo od smjese žumanjka jajeta i
4. zatim ponovno odstranimo amonijev karbonat odnosno NaCl i u danom primjeru vodu.

Iznenadujuće se pokazalo da u smislu izuma dobijemo produkte žumanjke jajeta s niskim sadržajem ukupnog holesterina i s dobrim osjetilnim svojstvima.

U okviru izuma pojmom "holesterin" označavamo holesterin kao i holesterin ester. Pri postupku u smislu izuma pripremimo u prvom stupnju s dodatkom vodene otopine amonijevog karbonata ili NaCl, razrijeđenu smjesu žumanjka jajeta pri čemu dodatkom amonijevog karbonata ili NaCl spriječimo razbijanje emulzije i tvorbe LDL-granulatne frakcije.

Količina otopine amonijevog karbonata može se varirati u širokim granicama. Pri tome se posebno prikladnim pokazalo da izaberemo dodatak amonijevog karbonata tako da bude u koncentraciji 0.5 do 2.5 mas % u odnosu na ukupnu masu razrijeđene smjese žumanjka jajeta. Otopinu amonijevog karbonata možemo pripremiti prije dodatka u žumanjak jajeta ili in situ odvojenim dodavanjem vode i amonijevog karbonata.

S obzirom na izlaznu masu žumanjka jajeta, povoljno je dodati amonijev karbonat u količini 0.3 do 20 mas %, posebno povoljno 1 do 5 mas 3 %.

Amonijev karbonat u smislu izuma podrazumijeva NH_4HCO_3 i $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$.

Ako u stupnju 1 postupka u smislu izuma dodamo otopinu NaCl, vrijedi u načelu sve isto što je ranije navedeno za otopinu amonijevog karbonata. Otopinom NaCl dovodimo toliko NaCl da dobijemo koncentraciju NaCl 2 do 10 mas % s obzirom na ukupnu masu razrijeđene smjese žumanjka jajeta. Posebno povoljna je koncentracija NaCl 4 do 6 mas %.

Dodatak vode u okviru razrijeđenja žumanjka jajeta vodom pomoću otopine treba povoljno iznositi 10 do 200 mas %, naročito povoljno 50 do 100 mas %, u odnosu na izlaznu masu žumanjka jajeta.

U drugom stupnju postupka zatim počinje odstranjivanje holesterina iz smjese žumanjka jajeta pomoću adsorpcije na prikladnoj krutoj tvari ili pomoću kompleksiranja s prikladnim kompleksirajućim sredstvom.

Kao adsorpcijska sredstva mogu se upotrijebiti, uobičajene napolarne tvori kao npr. aktivni ugljen, silikagel za reverznu fazu i drugo.

Kao posebno prikladna se pokazala upotreba kompleksirajućeg sredstva kao npr. β -ciklodekstrina koji omogućava posebno selektivno odvajanje holesterina.

Količina adsorpcijskog sredstva odnosno kompleksirajućeg sredstva može se varirati u širokim rasponima, iako je povoljno upotrijebiti 3 do 40 mas % apsorbensa odnosno kompleksirajućeg sredstva s obzirom na suhu masu žumanjka jajeta.

Pri tom oblaganju apsorbensa odnosno pri kompleksiranju koje se može provesti po poznatim metodama, kao npr. običnim miješanjem ili miješanjem pomoću miješalice, ovisno o prirodi i količini upotrebljenog apsorbensa odnosno kompleksirajućeg sredstva, odstranimo 80 do 95% holestina dok preostali sastojci žumanjka jajeta pretežno ostaju u tekućoj fazi.

Stupanj 2 se može provesti pri sobnoj temperaturi, no povoljnije je raditi pri sniženoj temperaturi, na 0 do 10°C.

U trećem stupnju postupka u smislu izuma odvojimo holisterinom obloženi apsorbens odnosno holisterinski kompleks od tekuće smjese žumanjka jajeta pri čemu se mogu upotrijebiti u tehnici uobičajeni postupci i metode za odvajanje krutih tvari od tekućih. Zbog brzog i potpunog odvajanje dajemo u smislu izuma prednost centrifugiranju. Isto tako su primjereni i ostali postupci odvajanja poput npr. filtracija.

Nakon rekuperiranja se apsorbens, odnosno kompleksirajuće sredstvo, može ponovno upotrijebiti.

Smjesa žumanjka jajeta iz koje smo u stupnju 3 odstranili holestin može se dalje direktno preraditi u produkte žumanjka jajeta. Iz razloga senzoričke kakvoće preporučljivo je da amonijev karbonat ili NaCl ponovno odstranimo. U četvrtom stupnju postupka zato NaCl i/ili amonijev karbonat i u danom primjeru vodu, ponovno odstranimo iz smjese žumanjka jajeta. U slučaju amonijevog karbonata odstranjivanje se može lako provesti zagrijavanjem na temperaturu 40 do 90°C, povoljno 55 do 70°C.

NaCl povoljno odstranimo ultrafiltracijom i/ili elektrodializom. Po želji se može također istovremeno ili odvojeno, u cijelosti ili djelomično odstraniti voda, npr. običnim raspšivanjem ili sušenjem ili vakuumskim uparivanjem. Na taj način dobijemo ovisno o stupnju sušenja, tekući žumanjak jajeta ili žumanjak jajeta u prahu s oko 80 do 95%-tnim smanjenjem sadržaja ukupnog holesterina. Na osnovi tog dobrog smanjenja sadržaja holesterina i povezano s daljnjim prednostima su manja tehnička zahtjevnost i dobra senzorička kakvoća dobivenih produkta žumanjke jajeta, je postupak u smislu izuma posebno prikladan za tehničku izvedbu.

Idući primjeri će detaljnije objasniti izum i ne smiju se smatrati ograničavajući ni u kojem pogledu.

Primjer 1

2 kg žumanjka jajeta s ukupnim sadržajem holesterina 1.2% smo razrijedili s 2 kg destilirane vode. Zatim smo dodali 50 g amonijevog karbonata $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$.

Razrijeđenoj smjesi žumanjka jajeta smo zatim dodali 280 g β -ciklodekstrina i miješali 30 minuta kod 10°C. Zatim smo odvojili obloženi β -ciklodekstrin pomoću centrifugiranja od smjese žumanjka jajeta.

Razrijeđenu smjesu žumanjka jajeta smo zatim podvrgli kratkotrajnoj vakuum obradi pri 50°C pri čemu smo odstranili amonijev karbonat i dodanu vodu. Kao produkt smo dobili žumanjak jajeta sa sadržajem ukupnog holesterina 0,18% što iznosi 85%-tno smanjenje u usporedbi sa neobrađenim žumanjkom jajeta.

Primjer 2

2 kg žumanjka jajeta s ukupnim sadržajem holesterina 1.2% smo razrijedili s 1 kg destilirane vode i dodali 75 g amonijevog karbonata $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$.

Dobivenoj smjesi žumanjka jajeta smo zatim dodali 280 g β -ciklodekstrina, miješali 60 minuta kod 15°C i zatim centrifugirali.

Razrijeđenu smjesu žumanjka jajeta smo zatim podvrgli kratkotrajnoj vakuum obradi pri 50°C pri čemu smo odstranili amonijev karbonat i dodanu vodu. Na taj način smo dobili razrijeđenu smjesu žumanjka jajeta i amonijevog karbonata s ukupnim sadržajem holesterina 0.14%. Iz toga smo sušenjem raspršivanjem pri 75°C odstranili amonijev karbonat i vodu i preradili u žumanjak jajeta u prahu s ukupnim sadržajem holesterina 0.4% što iznosi 83%-tno smanjenje holesterina u usporedbi s neobrađenim žumanjkom jajeta u prahu.

Primjer 3

2 kg žumanjka jajeta sa sadržajem holesterina 1.2% smo obradili tako da smo žumanjak jajeta pomiješali s 2 kg vodene 10%-tne otopine NaCl.

Zatim smo smjesi žumanjak jajeta-sol dodali 280 g β -ciklodekstrina i miješali 30 minuta kod 5°C. Zatim smo obloženi β -ciklodekstrin odvojili pomoću centrifugiranja od faze žumanjka jajeta.

Razrijeđenu fazu žumanjka jajeta smo zatim podvrgli Cross-Flow-ultrafiltraciji kod čega smo sadržaj vlage namjestili na prvotnu vrijednost i sadržaj NaCl smanjili približno na polovicu.

Zatim smo u stupnju elektrodijalize smanjili sadržaj NaCl na vrijednost oko 0.3%.

Kao produkt smo dobili žumanjak jajeta se ukupnim sadržajem holesterina 0.12% što iznosi 90%-tno smanjenje u usporedbi s neobrađenim žumanjkom jajeta.

PATENTNI ZAHTEJEVI

- Postupak za odstranjivanje holesterina iz žumanjka jajeta, **naznačen time**, da
 - dodatkom vodene otopine amonijevog karbonata ili NaCl pripremimo razrijeđenu smjesu žumanjka jajeta;
 - razrijeđenu smjesu žumanjka jajeta pomiješamo s krutim apsorbentom ili kompleksirajućim sredstvom dok holesterin nije apsorbiran odnosno kompleksiran, te
 - holesterinom obložen kruti apsorbens ili holesterinski kompleks odvojimo od smjese žumanjka jajeta i
 - zatim ponovno odstranimo amonijev karbonat odnosno NaCl i u danom primjeru vodu.
- Postupak prema zahtjevu 1, **naznačen time**, da u stupnju 1 dodamo vodenu otopinu amonijevog karbonata, dok koncentracija amonijevog karbonata ne iznosi 0.5 do 1.5 mas % s obzirom na ukupnu masu razrijeđene smjese žumanjka jajeta.
- Postupak prema zahtjevu 1 ili 2, **naznačen time**, da dodamo 0.3 do 20 mas % amonijevog karbonata s obzirom na izlaznu masu žumanjka jajeta.
- Postupak prema zahtjevu 3, **naznačen time**, da dodamo 1 do 5 mas % amonijevog karbonata.
- Postupak prema zahtjevu 1, **naznačen time**, da u stupnju 1 dodamo vodenu otopinu NaCl dok koncentracija NaCl ne iznosi 2 do 10 mas %, s obzirom na ukupnu masu razrijeđene smjese žumanjka jajeta.
- Postupak prema zahtjevu 5, **naznačen time**, da namjestimo koncentraciju NaCl 4- do 6 mas. % u odnosu na ukupnu masu razrijeđene smjese žumanjka jajeta.
- Postupak prema jednom od ranijih zahtjeva, **naznačen time**, da u stupnju 1 dodamo vodu u količini 10 do 200 mas

% s obzirom na izlaznu masu žumanjka jajeta.

8. Postupak prema zahtjevu 7, **naznačen time**, da dodamo vodu u količini 50 do 100 mas % s obzirom na ukupnu masu žumanjka jajeta.
- 5 9. Postupak prema jednom od ranijih zahtjeva, **naznačen time**, da u stupnju 2 kao kompleksirajuće sredstvo upotrijebimo β -ciklodekstrin.
- 10 10. Postupak prema jednom od ranijih zahtjeva, **naznačen time**, da upotrijebimo kruti apsorbens odnosno kompleksirajuće sredstvo u količini 3 do 4-0 mas % u odnosu na suhu masu žumanjka jajeta.
11. Postupak prema zahtjevu 1, **naznačen time**, da u stupnju 2 držimo temperaturu između 0 i 10°C.
- 10 12. Postupak prema jednom od ranijih zahtjeva, **naznačen time**, da u stupnju 3 odcentrifugiramo apsorbens obložen holesterinom odnosno holesterinski kompleks od razrijeđene smjese žumanjka jajeta.
13. Postupak prema zahtjevu 1, **naznačen time**, da u stupnju 4 odstranimo amonijev karbonat, u danom primjeru zajedno s vodom, zagrijavanjem pri 40 do 90°C.
14. Postupak prema zahtjevu 13, **naznačen time**, da zagrijavamo na 55 do 70°C.
15. Postupak prene zahtjevu 13 ili 14, **naznačen time**, da zagrijavamo u vakuumu.
- 15 16. Postupak prema zahtjevu 1, **naznačen time**, da u stupnju 4 odstranimo NaCl ultrafiltracijom i/ili elektrodializom.

SAŽETAK

- 20 Odstranjivanje kolesterola iz žumanjka jajeta izvodimo tako da
 1. dodatkom vodene otopine amonijevog karbonata ili NaCl pripremimo razrijeđenu smjesu žumanjka jajeta;
 2. razrijeđenu smjesu žumanjka jajeta pomiješamo s krutim apsorbensom ili kompleksirajućim sredstvom dok nije kolesterol apsorbiran odnosno kompleksiran, te zatim
 3. kolesterolom obloženi kruti apsorbens ili kolesterolski kompleks odvojimo od smjese žumanjka jajeta i
 - 25 4. zatim ponovno odstranimo amonijev karbonat odnosno NaCl i u danom primjeru vodu.