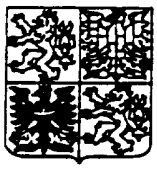
PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

281 233

ČESKÁ REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2816-91**

(22) Přihlášeno: 13. 09. 91

(30) Právo přednosti:
14. 09. 90 DE 90/4029287

(40) Zveřejněno: 18. 03. 92

(47) Uděleno: 24. 05. 96

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 17. 07. 96

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.[6]:
A 23 L 1/015
A 23 L 1/32

(73) Majitel patentu:
SKW Trostberg Aktiengesellschaft, Trostberg, DE;

(72) Původce vynálezu:
Cully Jan dr., Garching, DE;
Vollbrecht Heinz-Rüdiger dr., Altenmarkt, DE;

(54) Název vynálezu:
Způsob výroby žloutku se sníženým obsahem cholesterolu

(57) Anotace:
Řešení se týká postupu, při němž se ke snížení obsahu cholesterolu vaječný žloutek zředí vodou nebo vodným roztokem soli, cholesterol a estery cholesterolu se selektivně převedou na komplex s beta-cyklodextrinem, vzniklý komplex se od zředěného vaječného žloutku oddělí, přidaná voda se z vaječného žloutku opět odstraní, zbývající množství beta-cyklodextrinu se z vaječného žloutku odstraní působením alfa-amylázy nebo cyklodextrintransglykosylázy, beta-cyklodextrin se z komplexu získá zpět působením vody a/nebo alkoholu a popřípadě se znovu užije pro tvorbu komplexu s cholesterolem.

CZ 281 233 B6

Způsob výroby žloutku se sníženým obsahem cholesterolu

Oblast techniky

Vynález se týká vícestupňového způsobu pro výrobu žloutku se sníženým obsahem cholesterolu.

Dosavadní stav techniky

Cholesterol a estery cholesterolu jsou lipofilní látky, které se vyskytují v celé řadě důležitých potravin živočišného původu, například ve vaječném žloutku, mase, živočišných tucích a podobně.

Zvýšená hladina cholesterolu v krevním séru u lidí se považuje za rizikový faktor pro vznik arteriosklerózy a koronárního srdečního onemocnění.

Sníženým přívodem cholesterolu je v mnoha případech možno opět dosáhnout normálních hodnot cholesterolu v krevním séru. Z tohoto důvodu je snahou průmyslových podniků, vyrábějících potraviny, snížit podstatným způsobem obsah cholesterolu a jeho esterů v potravinách živočišného původu, bohatých na tuk.

Při těchto postupech je podstatným problémem zachovat senzorické a fyziologické vlastnosti zpracovávaného typu potraviny.

Byla již navrhována celá řada postupů k odstranění cholesterolu a jeho esterů, avšak řada těchto metod není vhodná pro snižování obsahu cholesterolu v potravinách vzhledem k tomu, že při nich dochází k chemickým změnám důležitých složek výchozího materiálu, například bílkovin, triglyceridů a pod.

Poměrně šetrný postup, který je znám až v poslední době, spočívá v tom, že se pro odstranění cholesterolu nebo jeho esterů užívá extrakce oxidem uhličitým při zvýšeném tlaku. Tento postup byl popsán v publikaci V. Krukonis, Supercritical Fluid Processing, International Symposium on Supercritical Fluids, Nice, 1988.

Tento postup využívá fyziologicky přijatelného extrakčního prostředku, jakým je oxid uhličitý, avšak provádění postupu při vysokém tlaku je techniky náročné. Mimoto není možno tímto způsobem dosáhnout selektivního odstranění cholesterolu a jeho esterů, nýbrž dochází k současné extrakci triglyceridů. Zlepšení selektivity je možno dosáhnout zásadně zvýšením teploty, toto zvýšení má však negativní vliv na účinnost extrakce cholesterolu a jeho esterů oxidem uhličitým a také na kvalitu výsledného produktu.

Z evropského patentového spisu č. 326 469 je známo odstranit cholesterolové deriváty z vaječného žloutku pomocí beta-cyklodextrinu. Nevýhodou tohoto postupu je nutnost dlouhodobého styku a poměrně malé snížení obsahu cholesterolu ve vaječném žloutku.

Vynález si proto klade za úkol navrhnout takový postup pro odstranění cholesterolu a/nebo esterů cholesterolu z vaječného

žloutku, který by byl prostý svrchu uvedených nevýhod známých postupů a bylo jím možno zajistit při malé technické náročnosti a za šetrných podmínek dostatečné a selektivní odstranění uvedených látek.

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu je způsob výroby žloutků se sníženým obsahem cholesterolu, který spočívá v tom, že se

a) vaječný žloutek rozředí vodou nebo vodným roztokem chloridu sodného o koncentraci 5 až 20 % hmotnostních, nebo hydrogenuhličitanu amonného o koncentraci 1 až 15 % hmotnostních,

b) cholesterol a estery cholesterolu, obsažené ve zředěném vaječném žloutku, se selektivně uvedou do komplexu s beta-cyklodextrinem,

c) komplex beta-cyklodextrinu s cholesterolem a/nebo estery cholesterolu se oddělí od zředěného vaječného žloutku,

d) přidaná voda se od žloutku opět oddělí,

e) zbývající množství beta-cyklodextrinu ve vaječném žloutku se enzymaticky odbourá působením alfa-amylázy a/nebo cyklodextrintransglykosylázy a

f) beta-cyklodextrin se působením vody a/nebo alkoholu získá zpět z komplexu beta-cyklodextrinu.

Neočekávaně se prokázalo, že tímto způsobem je možno získat produkty s nízkým obsahem celkového cholesterolu a s dobrými senzorickými vlastnostmi. Mimoto je v takto získaném vaječném žloutku se sníženým obsahem cholesterolu prakticky zcela odstraněn beta-cyklodextrin. Tyto výsledky jsou zcela neočekávané.

Při provádění způsobu podle vynálezu se ve stupni a) zředí vaječný žloutek přidáním vody nebo vodného roztoku soli. Množství vody se může pohybovat v širokém rozmezí, avšak z hlediska hospodárnosti je výhodné přidat 10 až 400, s výhodou 100 až 300 % hmotnostních vody, vztaženo na výchozí hmotnost vaječného žloutku. Při tomto přidání vody se vysráží granulátní fáze v pevné formě a je možno ji jednoduchým způsobem oddělit od kapalné vaječné plazmy běžnými postupy pro dělení kapalin a pevných látek, například odstředěním. V tomto případě se pro další zpracování místo vaječného žloutku užije pouze plazma vaječného žloutku.

Místo vody je možno vaječný žloutek ředit také zředěným roztokem soli. Při tomto způsobu provedení nedochází k rozdělení emulze vaječného žloutku na granulární frakci a na frakci plazmy. Jako roztok soli se s výhodou užije roztok chloridu sodného s koncentrací 5 až 20 % hmotnostních, nebo hydrogenuhličitanu amonného o koncentraci 1 až 10 % hmotnostních, aby bylo možno dosáhnout dostatečného ředění.

V následujícím stupni b) způsobu podle vynálezu pak dochází k odstranění cholesterolu a derivátů cholesterolu ze zředěného

vaječného žloutku nebo plazmy vaječného žloutku tvorbou komplexu s beta-cyklodextrinem, který dovoluje zvláště selektivní vazbu cholesterolu a jeho derivátů.

Množství beta-cyklodextrinu se může pohybovat v širokém rozmezí, s výhodou se však užívá 3 až 40 % hmotnostních beta-cyklodextrinu, vztaženo na sušinu vaječného žloutku.

Při této tvorbě komplexu s beta-cyklodextrinem, k níž dochází známým způsobem, například jednoduchým smísením nebo smícháním se užitým beta-cyklodextrinem odstraní přibližně 60 až 99 % hmotnostních cholesterolu a jeho esterů, kdežto ostatní složky vaječného žloutku převážně zůstávají v kapalné fázi. Vzhledem k předběžnému zředění vaječného žloutku vodou je možné cholesterol odstranit působením beta-cyklodextrinu i při nižších teplotách v rozmezí 4 až 20 °C šetrně a úplně. Zvláště výhodná je tvorba komplexu při míchání směsi při teplotě 4 až 10 °C.

Ve stupni c) nároku podle vynálezu se odstraní komplex beta-cyklodextrinu s cholesterolem a/nebo jeho estery z kapalné fáze vaječného žloutku. K tomuto účelu je zásadně možno použít jakýkoliv běžný postup pro oddělení pevné látky od kapaliny. Vzhledem k rychlému a úplnému oddělení se s výhodou užije odstředění. Zásadně stejně vhodné jsou však také jiné postupy, například filtrace.

Po oddělení komplexu s beta-cyklodextrinem je popřípadě možno opět oddělit od vaječného žloutku přidané soli známým způsobem vzhledem k tomu, že pro některé účely je přítomnost těchto solí nežádoucí. V případě použití hydrogenuhličitanu amonného je sůl možno odstranit snadným způsobem tak, že se materiál s obsahem této soli zahřeje a odpařuje při teplotě 40 až 80 °C. Toto odpařování se s výhodou provádí ve vakuu při teplotě 55 až 70 °C. V případě, že je nutno od vaječného žloutku oddělit chlorid sodný, provádí se postup s výhodou pomocí dialýzy, elektrodialýzy, pomocí ultrafiltrace v protiproudu a podobnými postupy.

Po oddělení komplexu s beta-cyklodextriny je možno zředěný vaječný žloutek nebo plazmu vaječného žloutku, stále ještě zředěnou a prostou cholesterolu po odstranění soli ve stupni d) znovu koncentrovat takovým způsobem, že se opět dosáhne původního obsahu pevných látek. Tento stupeň způsobu podle vynálezu je opět možno provádět při využití známých postupů, například odpařením ve vakuu nebo pomocí membrán, tyto postupy jsou velmi šetrné a při jejich provedení nevznikají žádné problémy.

Ve stupni e) způsobu podle vynálezu dochází k opětnému odstranění zbývajícího množství cyklodextrinu z vaječného žloutku, tento zbytek obvykle tvoří 0,1 až 1,0 % hmotnostních, postup se provádí enzymaticky pomocí alfa-amylázy a/nebo CTG-ázy. S výhodou se použije alfa-amyláza z mikroorganismů čeledi Aspergillus niger, Aspergillus oryzae, Bacillus polymyxa, pankreatická amyláza vepře, amyláza z Bacillus coagulans nebo Flavobacterium. Ze skupiny CTG-áz (cyklodextrintransglykosylázy = EC 2.4.1.19) se užije například enzymů, tvořených bakteriemi čeledi Bacillus (například Bacillus macerans, Bacillus megaterium, Bacillus stearothermophilus, Bacillus circulans a Bacillus ohbensis), Klebsiella (například pneumoniae), Micrococcus (například

varians), je možno užít také enzymu z alkalofilních bakterií, například č. 38-2 a 17-1. Tyto alfa-amylázy a CTG-ázy umožňují prakticky úplné odbourání beta-cyklodextrinu. Před přidáním enzymu k vaječnému žloutku je vhodné upravit pH žloutku na hodnotu, optimální pro enzym, což je možno provést například vhodnou kyselinou, přijatelnou z potravinářského hlediska, například kyselinou citronovou. Potřebné množství enzymů se v podstatě řídí výchozím množstvím beta-cyklodextrinu ve vaječném žloutku a v případě alfa-amylázy se obvykle pohybuje v rozmezí 10 až 500 FAU na 1 g beta-cyklodextrinu, který je nutno odstranit. 1 FAU = fungální jednotka alfa-amylázy, která odbourá 5,26 g škrobu za 1 hodinu za standartních podmínek: substrát: rozpustný škrob, doba inkubace 7 až 20 minut, teplota: 37 °C, pH 4,7. V případě CTG-ázy se enzym s výhodou užije v množství 0,5 až 20 U na 1 g beta-cyklodextrinu, který je nutno odstranit. 1 U = množství, které je schopné přeměnit 1 μmol substrátu za 1 hodinu. Je možno užít i větší množství enzymu, není to však hospodárné vzhledem k tomu, že tímto způsobem již není možno dosáhnout zlepšeného účinku. Teplota při zpracování a doba zpracování se mohou pohybovat v širokém rozmezí, zvláště výhodné je však teplotní rozmezí 5 až 65 °C, výhodná doba zpracování je 0,5 až 50 hodin. Podle výhodného provedení způsobu podle vynálezu se užije směs obou enzymů, tj. alfa-amylázy a CTG-ázy.

Je také možno provádět enzymatické odbourávání cyklodextrinu ve zředěném vaječném žloutku, to znamená před koncentračním stupněm. V tomto případě je pořadí stupňů d) a e) obrácené. Toto provedení však není výhodné.

Po enzymatickém zpracování je možno v případě, že cholesterol byl odstraněn z plazmy vaječného žloutku, znovu uvést do suspenze původně oddělenou granulární frakci v plazmě vaječného žloutku.

Vaječný žloutek, který je nyní prakticky prostý cholesterolu, je nyní možno dále zpracovávat podle předpokládaného použití. Je například možno přidat k vaječnému žloutku opět odpovídající množství vaječného bílku, čímž se získá směs celých vajec se sníženým obsahem cholesterolu.

Ve stupni f) způsobu podle vynálezu se beta-cyklodextrin, uvedený do komplexu s cholesterolem a/nebo jeho estery, popřípadě čistí a pak regeneruje. Při tomto případném čisticím stupni se materiál promývá vodou nebo vodným roztokem soli, například chloridu sodného nebo hydrogenuhličitanu amonného. Množství použité vody je možno měnit v poměrně širokém rozmezí. Zpravidla jde o stejné množství až pětinásobné množství, vztaženo na hmotnost komplexu beta-cyklodextrinu, aby bylo možno dosáhnout dostatečného oddělení komplexu beta-cyklodextrinu od případných nečistot, například bílkovin. Podle výhodného provedení se komplex beta-cyklodextrinu a cholesterolu vmíchá do stejného až dvojnásobného množství vody a pevný komplex se oddělí, například odstředěním. Promývací voda, která obsahuje převážně bílkoviny, se popřípadě užije k ředění vaječného žloutku ve stupni a).

Po promytí se komplex beta-cyklodextrinu zpracovává působením vody a/nebo alkoholu, čímž se beta-cyklodextrin oddělí od cholesterolu a/nebo jeho derivátů a popřípadě od přítomných tuků.

Teplota vody nebo alkoholu je pro destilaci komplexu s výhodou 40 až 100 °C, při této teplotě se uvolněný beta-cyklodextrin ve vodě rozpouští. Jako alkohol je možno použít alkoholy o 1 až 4 atomech uhlíku, s výhodou ethanol.

Tímto způsobem získaná směs tuku a cholesterolu je vhodná po případném odstranění alkoholu pro použití jako surovina pro kosmetický průmysl, nebo je možno ji dále zpracovávat k získání cholesterolu.

Beta-cyklodextrin, čištěný vodou nebo alkoholem, popřípadě ve větším počtu stupňů se s výhodou rozpustí ve vodě a pak se ve formě vodného roztoku nebo po odpaření vody ve formě prášku znovu přivádí pro tvorbu komplexu s cholesterolem a jeho deriváty do stupně b).

Toto zpětné získávání a zpětné přivádění beta-cyklodextrinu pomáhá zajistit velkou hospodárnost způsobu podle vynálezu. Mimoto je tímto způsobem možno získat vaječný žloutek s obsahem celkového cholesterolu, sníženým o 80 až 95 % a s obsahem zbylého cyklodextrinu nižším než 20 ppm. Na základě tohoto velkého snížení cholesterolu i beta-cyklodextrinu je možno získaný vaječný žloutek, který má dobré senzorické vlastnosti, použít v potravinářství k jakýmkoliv účelům. Vzhledem k malé technické nákladnosti postupu je způsob podle vynálezu zvláště vhodný pro technické provedení v průmyslu.

Praktické provedení způsobu podle vynálezu bude osvětleno následujícími příklady.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

2 kg vaječného žloutku, 950 g sušiny, obsah cholesterolu 1,2 %, se smísí se 2 kg vodného roztoku chloridu sodného o koncentraci 10 % hmotnostních.

Pak se směs vaječného žloutku a solného roztoku smísí s 280 g beta-cyklodextrinu a směs se míchá 60 minut při teplotě 5 °C. Pak se beta-cyklodextrin ve formě komplexu oddělí od fáze vaječného žloutku odstředěním.

Pak se zředěná fáze vaječného žloutku podrobí v protiproudu ultrafiltraci, čímž se obsah vody upraví na původní hodnotu a obsah chloridu sodného se sníží přibližně na polovinu. V následujícím stupni se obsah chloridu sodného sníží pomocí elektrodialýzy na 0,3 % hmotnostních.

Pak se vaječný žloutek inkubuje 45 minut alfa-amylázou, například s enzymatickým prostředkem Fungamyl 800 (1000 FAU/kg materiálu) při pH 5,5 a teplotě 50 °C, čímž se obsah beta-cyklodextrinu sníží z přibližně 0,5 % na hodnotu nižší než 20 ppm.

Jako produkt se získá vaječný žloutek s celkovým obsahem cholesterolu 0,12 %, což znamená 90% snížení ve srovnání s nez-

pracovaným žloutkem.

350 g odděleného komplexu beta-cyklodextrinu a cholesterolu, včetně obsažených tuků a bílkovin, se smísí se 400 ml vody a pevný podíl se oddělí od kapalné fáze odstředěním. Vodný roztok s obsahem bílkovin se užije ke zředění vaječného žloutku. Komplex beta-cyklodextrinu a cholesterolu, oddělený jako pevná látka, se opakovaně promyje devítinásobným množstvím 98% ethanolu. Pak se ethanolová fáze oddělí od pevného beta-cyklodextrinu odstředěním. Beta-cyklodextrin se rozpustí v horké vodě a oddělí od nerozpuštěných složek filtrací. Z roztoku se pak získá 198 g čistého beta-cyklodextrinu, který se znovu užije pro tvorbu komplexu s cholesterolem.

Příklad 2

2 kg vaječného žloutku, obsah sušiny 950 g, obsah cholesterolu 1,2 %, se smísí se 2 kg vodného roztoku hydrogenuhličitanu amonného o koncentraci 4 % hmotnostní.

Pak se směs vaječného žloutku a solného roztoku smísí s 300 g beta-cyklodextrinu a míchá 50 minut při teplotě 5 °C. Pak se komplex beta-cyklodextrinu s cholesterolem a jeho deriváty od fáze vaječného žloutku oddělí odstředěním.

Zředěná fáze vaječného žloutku se pak odpaří ve vakuu při teplotě 65 °C, čímž se odstraní hydrogenuhličitan amonný a obsah vody se upraví na výchozí hodnotu.

Nakonec se upraví pH vaječného žloutku kyselinou citronovou na 6,0 a přidá se enzymatický prostředek Fungamyl 800 (300 FAU/kg materiálu). Směs se inkubuje 45 minut při teplotě 50 °C, pak se přidá 50 U CTG-ázy EC 2.4.1.19 z Bacillus macerans a směs se inkubuje ještě 45 minut při teplotě 50 °C.

Jako produkt se získá vaječný žloutek s celkovým obsahem cholesterolu 0,1 %, což odpovídá 92% snížení ve srovnání s nezpracovaným vaječným žloutkem. V produktu nebylo možno prokázat žádný zbytek beta-cyklodextrinu, hranice prokazatelnosti je 20 ppm.

350 g odděleného komplexu beta-cyklodextrinu a cholesterolu, včetně tuků a bílkovin, se smísí s 3800 g vody a směs se 30 minut vaří. Pak se roztok zbaví filtrací nerozpustného podílu. Z roztoku se získá 205 g čistého beta-cyklodextrinu, který se znovu použije ke tvorbě komplexu s cholesterolem.

Příklad 3

2 kg vaječného žloutku, 950 g sušiny, celkový obsah cholesterolu 1,2 %, se smísí s destilovanou vodou v poměru 1 : 3 a směs se odstřeďuje 15 minut při teplotě 4 °C.

6,3 kg takto získané frakce plazmy se slije od granulární frakce a důkladně se promísí s 238 g beta-cyklodextrinu, směs se mísí 60 minut při teplotě 4 °C.

Fáze plazmy se inkubuje 120 minut se směsí Fungamylu 800 (400 FAU/kg materiálu) a CTG-ázy z Bacillus macerans (10 U/kg výchozího materiálu) při pH 5,5 a teplotě 50 °C.

Tímto způsobem zpracovaná frakce plazmy se odpaří ve vakuu při teplotě 50 °C, čímž se obsah vody upraví na původní hodnotu. Oddělená granulární frakce se pak znovu uvede do suspenze v plazmě vaječného žloutku a výsledná směs se smísí v poměru 1 : 2 s vaječným bílkem. Tímto způsobem se získá směs celých vajec s obsahem cholesterolu 0,07 % hmotnostních.

350 g odděleného komplexu beta-cyklodextrinu se smísí se 700 g vody a pevný podíl se odstředěním zbaví ve vodě rozpustných nečistot, například bílkovin. Komplex beta-cyklodextrinu se pak třikrát povaří vždy 60 minut s 900 g ethanolu. Pevný podíl, oddělený filtrací, se rozpustí ve vroucí vodě, filtrací se zbaví nerozpuštěného podílu, získaný roztok beta-cyklodextrinu se odpaří a nechá krystalizovat, čímž se získá zpět 160 g čistého beta-cyklodextrinu.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Způsob výroby žloutků se sníženým obsahem cholesterolu, **v y z n a č u j í c í s e t í m,** že se

   a) vaječný žloutek rozředí vodou nebo vodným roztokem chloridu sodného o koncentraci 5 až 20 % hmotnostních, nebo hydrogenuhličitanu amonného o koncentraci 1 až 15 % hmotnostních,

   b) cholesterol a estery cholesterolu, obsažené ve zředěném vaječném žloutku, se selektivně uvedou do komplexu s beta-cyklodextrinem,

   c) komplex beta-cyklodextrinu s cholesterolem a/nebo estery cholesterolu se oddělí od zředěného vaječného žloutku,

   d) přidaná voda se od žloutku opět oddělí,

   e) zbývající množství beta-cyklodextrinu ve vaječném žloutku se enzymaticky odbourá působením alfa-amylázy a/nebo cyklodextrintransglykosylázy a

   f) beta-cyklodextrin se působením vody a/nebo alkoholu získá zpět z komplexu beta-cyklodextrinu.

2. Způsob podle nároku 1, **v y z n a č u j í c í s e t í m,** že se ke zředění vaječného žloutku užije 10 až 400 % hmotnostních vody, vztaženo na výchozí hmotnost vaječného žloutku.

3. Způsob podle nároku 2, **v y z n a č u j í c í s e t í m,** že se přidá 100 až 300 % hmotnostních vody.

4. Způsob podle nároků 1 až 3, **vyznačující se tím**, že se po přidání vody ve stupni a) oddělí granulární fáze od plazmy vaječného žloutku odstředěním.

5. Způsob podle nároků 1 až 4, **vyznačující se tím**, že se ve stupni b) přidá 3 až 40 % hmotnostních cyklodextrinu, vztaženo na sušinu vaječného žloutku.

6. Způsob podle nároků 1 až 5, **vyznačující se tím**, že se přidané soli po oddělení komplexu beta-cyklodextrinu ve stupni c) z vaječného žloutku opět odstraní.

7. Způsob podle nároku 6, **vyznačující se tím**, že se hydrogenuhličitan amonný odstraní odpařením ve vakuu při teplotě 40 až 80 °C, s výhodou 55 až 70 °C.

8. Způsob podle nároku 6, **vyznačující se tím**, že se chlorid sodný ze zředěného vaječného žloutku odstraní ultrafiltrací v protiproudu a elektrodialýzou.

9. Způsob podle nároků 1 až 8, **vyznačující se tím**, že se z vaječného žloutku ve stupni d) voda odstraní destilací ve vakuu.

10. Způsob podle nároků 1 až 9, **vyznačující se tím**, že se k enzymatickému odbourání beta-cyklodextrinu ve stupni e) užije alespoň jedna alfa-amyláza, která se volí ze skupiny alfa-amyláz, tvořených nebo odvozených od mikroorganismů Aspergillus niger, Aspergillus oryzae, Bacillus polymyxa, amyláza z pankreatu vepře, amyláza z Bacillus coagulans nebo Flavobacterium.

11. Způsob podle nároku 10, **vyznačující se tím**, že se alfa-amyláza užije v množství 10 až 500 FAU na 1 g beta-cyklodextrinu, který má být odstraněn.

12. Způsob podle nároků 1 až 9, **vyznačující se tím**, že se k enzymatickému odbourání beta-cyklodextrinu ve stupni e) užije alespoň jedna cyklodextrintransglykosyláza, která se volí z enzymů, odvozených nebo produkovaných bakteriemi Bacillus, Klebsiella, Micrococcus a alkalofilní bakterie.

13. Způsob podle nároku 12, **vyznačující se tím**, že se cyklodextrintransglykosyláza užije v množství 0,5 až 20 U na 1 g beta-cyklodextrinu, který má být odstraněn.

14. Způsob podle nároků 10 až 13, **vyznačující se tím**, že se enzymatické odbourávání provádí při teplotě 5 až 65 °C.

15. Způsob podle nároků 1 až 14, **vyznačující se tím**, že se po enzymatickém odbourání beta-cyklodextrinu oddělená granulární frakce znovu uvede do suspenze v plazmě vaječného žloutku.

16. Způsob podle nároků 1 až 15, **vyznačující se tím**, že se ve stupni f) k regeneraci cyklodextrinu z komplexu beta-cyklodextrinu a cholesterolu užije 3 až 10ti násobné množství vody nebo alkoholu.

17. Způsob podle nároku 16, **vyznačující se tím**, že se zpracování vodou a/nebo alkoholem provádí při teplotě 40 až 100 °C.

18. Způsob podle nároku 16 nebo 17, **vyznačující se tím**, že se promývání alkoholem s vodným ethanolem provádí v několika stupních.

19. Způsob podle nároků 1 až 18, **vyznačující se tím**, že se čištěný beta-cyklodextrin přivádí ve formě vodného roztoku zpět do stupně b).

Konec dokumentu