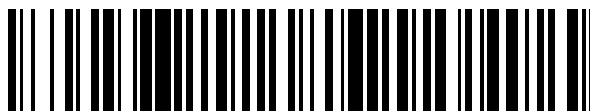


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 431 046**

51 Int. Cl.:

A23D 7/005	(2006.01) A23C 19/072	(2006.01)
A23L 1/314	(2006.01) A23C 19/076	(2006.01)
A23L 1/32	(2006.01)	
C08B 37/00	(2006.01)	
A23C 7/04	(2006.01)	
A23C 9/123	(2006.01)	
A23C 13/12	(2006.01)	
A23C 15/06	(2006.01)	
A23C 19/05	(2006.01)	
A23C 19/068	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.12.2005 E 05821441 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2013 EP 1893652**

54 Título: **Procedimiento para la eliminación del colesterol de los alimentos utilizando la beta-ciclodextrina reticulada con ácido adípico**

30 Prioridad:

21.06.2005 KR 20050053676

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

22.11.2013

73 Titular/es:

**KWAK, HAE-SOO (100.0%)
101-601, HYUNDAI 2-CHA APARTMENT
DUNCHON-DONG GANGDONG-GU
SEOUL 134-060, KR**

72 Inventor/es:

**HAN, EUN-MI;
KIM, SONG-HEE y
JUNG, TAE-HEE**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 431 046 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la eliminación del colesterol de los alimentos utilizando la β -ciclodextrina reticulada con ácido adípico.

Sector técnico

La presente invención se refiere a la eliminación del colesterol de los alimentos mediante la utilización de β -ciclodextrina reticulada con ácido adípico como trampa.

Técnica anterior

Se ha documentado la existencia de una fuerte correlación positiva entre el nivel de colesterol en la sangre y el riesgo de enfermedades del sistema circulatorio en la edad adulta. Por este motivo, recientemente, algunos alimentos consumidos en el mundo occidental, incluidos la leche, los productos lácteos y otros alimentos de origen animal, ricos en colesterol, se han convertido en objeto de preocupación entre la población.

La mayoría de alimentos de origen animal tienen colesterol. Su contenido, según se ha medido, es de 219 mg/100 g de mantequilla, 137 mg/100 g de crema de leche con un 36% de materia grasa, 105 mg/100 g de queso cheddar, 95 mg/100 g de queso cremoso, 87,5 mg/100 g de queso azul, 122,9 mg/100 g de queso feta, 112 mg/100 g de manteca de cerdo y 1.050 mg/100 g de yema de huevo.

La única manera de prevenir las enfermedades debidas a la ingesta excesiva de colesterol es consumir alimentos bajos en colesterol o sin colesterol. Se ha llevado a cabo una investigación activa sobre la reducción física, química y/o biológica del colesterol en los alimentos, incluidos los productos lácteos.

Uno de los métodos más eficaces para la reducción del contenido de colesterol en los productos lácteos es la utilización de β -CD como absorbente. Este absorbente se une al colesterol y forma un complejo β -CD-colesterol insoluble en agua que se puede eliminar fácilmente por centrifugación.

La β -CD es uno de los oligosacáridos con enlaces α -(1,4) circulares producidos por la reacción catalítica entre la ciclodextrina glicosiltransferasa, una enzima presente en los microorganismos, y el almidón, y no es tóxico para el organismo (véase la figura 1). La β -CD tiene una cavidad en el centro de su estructura molecular que forma un complejo de inclusión con diversos compuestos, incluido el colesterol. Además, la β -CD no es tóxica y es comestible, no higroscópica, químicamente estable y fácil de separar del complejo. Por consiguiente, la β -CD es un material adecuado para la eliminación del colesterol de los alimentos.

A pesar de que tiene la ventaja de eliminar el colesterol de diversos alimentos con una eficiencia de aproximadamente el 90% o mayor, la β -CD presenta también las desventajas de ser económicamente desfavorable y de provocar la contaminación del medio ambiente, dado el gran consumo de β -CD debido a la ineficacia de su recuperación. Para superar estos problemas, se ha estudiado la recuperación y el reciclaje de la β -CD. Se ha sugerido la utilización de disolventes orgánicos en la recuperación y el reciclaje de la β -CD (véase la figura 2). Sin embargo, la β -CD se puede recuperar en cierta medida cuando se aplica a la leche, pero resulta difícil de separar de algunos alimentos, tales como las cremas.

La utilización de β -CD en la eliminación del colesterol se ha dado a conocer en muchas patentes, por ejemplo, en la publicación de patente coreana abierta a inspección pública 1999-0015191, titulada "method for removing cholesterol from cream", nº 1999-0015192, titulada "method for cholesterol removal using immobilized cyclodextrin derivatives", nº 2004-0054319, titulada "method for preparing cholesterol-removed whipping cream", nº 2003-0078532, titulada "method for removing cholesterol from cheese", y nº 2003-0035341, titulada "cyclodextrin derivative immobilized on solid and preparation thereof". La utilización de β -CD reticulada con ácido adípico para la eliminación del colesterol de la leche en una proporción del 75% también se conoce por Kim S. H. *et al*, Journal of Dairy Science, vol. 87, supl. 1, páginas 234-235, 2004.

Descripción de la invención

Problema técnico

Sin embargo, estas técnicas tienen una proporción de extracción baja y no son adecuadas para su aplicación industrial.

Por consiguiente, existe la necesidad de desarrollar un método para eliminar el colesterol de los alimentos con un gran beneficio económico.

Solución técnica

A fin de desarrollar la presente invención, la investigación intensa y exhaustiva sobre una eliminación del colesterol de los alimentos que sea económicamente rentable y susceptible de aplicación industrial, que se ha llevado a cabo, ha dado como resultado el descubrimiento de que la β -CD reticulada con ácido adípico puede eliminar el colesterol de una variedad de alimentos con una eficiencia elevada en condiciones específicas.

Por consiguiente, un objetivo de la presente invención consiste en proporcionar un procedimiento para reducir el nivel de colesterol de los alimentos con una eficiencia elevada y de forma económicamente beneficiosa.

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se da a conocer un procedimiento para la eliminación del colesterol de los alimentos que comprende el tratamiento del alimento que contiene colesterol con beta-ciclodextrina reticulada con ácido adípico a fin de atrapar el colesterol en la beta-ciclodextrina, y la separación del complejo beta-ciclodextrina-colesterol.

En dicho procedimiento, la etapa de tratamiento se lleva a cabo haciendo reaccionar la beta-ciclodextrina reticulada con el alimento que contiene colesterol a 30-50°C durante 1-40 min con agitación a 50-1600 rpm.

Efectos ventajosos

El tratamiento con la β -CD reticulada con ácido adípico puede eliminar el colesterol en cantidades máximas del 91% en la crema de leche, el 93% en la manteca de cerdo y el 95% en la yema de huevo.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es una fórmula química que muestra la estructura de la β -CD.

La figura 2 es una vista que muestra el procedimiento de regeneración de la beta-ciclodextrina reticulada.

Mejor modo de poner en práctica la invención

La reticulación de la β -CD se puede alcanzar mediante la utilización de ácido adípico como agente de reticulación. El ácido adípico se puede añadir a los alimentos sin limitación, ya que es un aditivo aprobado por la FDA de los Estados Unidos con la calificación GRAS (Generally Recognized As Safe. Además, el ácido adípico se ha identificado como sustancia amarga utilizable y conservante alimenticio en el código coreano de aditivos alimenticios.

En presencia de un medio alcalino, el ácido adípico reacciona con dos grupos hidroxilo de la β -CD. Es decir, el ácido adípico forma enlaces intramoleculares o intermoleculares, monoéter o diéter, con la β -CD, lo que da lugar a la reticulación de la β -CD.

Los materiales en los que se ha ensayado la reducción del colesterol en la presente invención son leche comercializada (3,6% de materia grasa), crema de leche (36% de materia grasa) preparada a partir de leche cruda suministrada por Binggrae, Co. Ltd., Corea, utilizando un separador de crema, manteca de cerdo extraída de grasa de cerdo por tratamiento térmico, y yema de huevo obtenida de huevos comprados.

Otros materiales incluyen alcohol isoamílico y ácido sulfúrico para el análisis cuantitativo de la materia grasa de la leche, colesterol (pureza del 99%), 5 α -colestano, ambos adquiridos a través de Sigma Chemical Co., y β -CD (pureza del 99,1%), obtenido a través de Nihon Shokunin Cako Co. Ltd. (Osaka, Japón) para la elaboración de una curva estándar, ácido adípico (Acros Organics, US) para la reticulación de la β -CD y ácido acético e isopropanol, ambos con una pureza del 99,00%, para la recuperación de la β -CD.

La materia grasa de la leche se determina mediante una prueba de Gerber en la que los lípidos separados por centrifugación se miden con un divisor.

Para el análisis de CG, se mezcla 1 g de una muestra con 500 μ l de un patrón interno de 1 ml (5 α -colestano 1ml/ml de etanol al 99,8%) en un tubo con tapón de rosca, seguido por saponificación con 5 ml de una solución 2M de hidróxido de potasio en etanol a 60°C durante 30 min con 5 ml de solución de hidróxido de potasio 2M en etanol. Tras enfriar la mezcla a temperatura ambiente, el colesterol se extrae con 5 ml de hexano. Este proceso se repite cuatro veces.

El extracto, agrupado en la acumulación de capas de hexano, se transfiere a un matraz de fondo redondo y se seca a 40°C en vacío. El concentrado obtenido de este modo se disuelve en 1 ml de hexano y se guarda en un microtubo. El volumen de inyección de la muestra es de 2 μ l para la CG y la cuantificación del colesterol se puede llevar a cabo mediante la comparación del tiempo de retención y el área de pico entre el colesterol de muestra y el patrón interno de colestano.

Modo de poner en práctica la invención

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se da a conocer un procedimiento para la reducción del nivel de colesterol de los alimentos utilizando β -CD reticulada con ácido adípico.

En dicho procedimiento, la β -CD reticulada con ácido adípico se utiliza en una cantidad del 0,5-30% en peso con respecto al peso del alimento que contiene colesterol.

Tras la adición de la β -CD reticulada con ácido adípico, se induce la captura del colesterol dentro de la β -CD reticulada a una temperatura de entre 30°C y 50°C durante un periodo de entre 1 y 40 min con agitación a una velocidad de entre 50 y 1600 rpm, y a continuación se separa el complejo β -CD reticulada-colesterol.

Los alimentos que contienen colesterol y a los que se puede aplicar el procedimiento según la presente invención pueden ser productos lácteos, productos cárnicos y productos de huevo. Concretamente, la crema de leche, la mantequilla, el helado, el yogur o el queso son ejemplos de productos lácteos, la manteca de cerdo y los embutidos lo son de productos cárnicos, y los huevos de aves de corral, la yema de huevo y la mayonesa lo son de productos de huevo.

Se puede tener una mejor comprensión de la presente invención a partir de los siguientes ejemplos, que se exponen a fin de ilustrarla, pero no deben considerarse limitativos de la presente invención.

Ejemplo 1 de referencia: Preparación de β -CD reticulada

Se agitó una suspensión de 100 g de β -CD en 80 ml de agua destilada a temperatura ambiente durante 2 horas y se añadió ácido adípico. Dicha suspensión se ajustó a un valor de pH de 2 con NaOH 1 M y a continuación se sometió a una reacción de reticulación durante 16 horas a temperatura ambiente con agitación. Posteriormente, el pH de la reacción se reajustó a 5,5 con ácido acético.

El producto de reticulación se extrajo por filtración a través de un papel de filtro (Whatman n.º 2), se lavó tres veces con 150 ml de agua destilada, se secó a 60°C durante 6 horas y se hizo pasar a través de un tamiz de malla 100 para obtener la β -CD reticulada.

Ejemplo 2 de referencia: Eliminación del colesterol de la leche mediante β -CD reticulada1) Concentración de β -CD reticulada

Para determinar qué cantidad de β -CD reticulada es la más eficaz para reducir el colesterol de la leche, se añadió β -CD reticulada en una cantidad correspondiente al 0,5%, el 1,0%, el 1,5%, el 2,0% y el 2,5% en peso con respecto al peso de la leche, teniendo en cuenta que se disuelven únicamente 1,85 g de β -CD en 100 g de agua a temperatura ambiente. Se llevaron a cabo pruebas en condiciones de agitación a 800 rpm a 10°C durante 10 min y centrifugación a 175 xg a 10°C durante 10 min.

La proporción de eliminación del colesterol resultante de las pruebas se indica en la siguiente tabla 1. Tal como se observa dicha tabla 1, las mediciones indican que la β -CD reticulada mediante ácido adípico elimina el colesterol de la leche en una proporción máxima del 93,13% cuando se utiliza en una cantidad del 1% con respecto al peso de leche, en una proporción mínima del 85,05% cuando se utiliza en una cantidad del 0,5% y en proporciones intermedias del 93,02%, el 92,64% y el 92,58%, cuando se utiliza en una cantidad del 1,5%, el 2,0% y el 2,5%, respectivamente.

TABLA 1: Proporción de eliminación del colesterol según la concentración de β -CD reticulada

β -CD (%)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
0,5	85,05
1,0	93,13
1,5	93,02
2,0	92,64
2,5	92,58

¹⁾ sin significación (P < 0,05),

Factores de eliminación del colesterol: temperatura de mezcla 10°C, velocidad de agitación 800 rpm, tiempo de mezcla 10 min, materia grasa de la leche 3,6%

2) Temperatura de mezcla

Habitualmente, la leche se mantiene a 4°C o más fría durante su almacenamiento y distribución. Para examinar el efecto de la temperatura sobre la proporción de eliminación del colesterol, la leche se mezcló con la β -CD reticulada mediante ácido adípico a diversas temperaturas, de cero a 20°C, y los resultados se indican en la siguiente tabla 2.

Las mediciones indican que la proporción de eliminación del colesterol aumenta con la temperatura: 85,14% a 0°C, 85,33% a 5°C, 92,38% a 10°C, 92,56% a 15°C y 93,08% a 20°C. Aunque la máxima proporción de eliminación del colesterol se produjo a 20°C, se cree que la temperatura óptima para eliminar el colesterol de la leche es de 10°C, teniendo en cuenta el hecho de que la leche se mantiene fresca a 4°C.

TABLA 2: Efecto de la temperatura sobre la eliminación del colesterol de la leche mediante β -CD reticulada

Temperatura de mezcla (°C)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
0	85,14
5	85,33
10	92,38
15	92,56
20	93,08

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$),

Factores de eliminación del colesterol: β -CD reticulada 1%, velocidad de agitación 800 rpm, tiempo de mezcla 10 min, contenido de grasa de la crema 3,6%

3) Tiempo de mezcla

Se evaluó la proporción de eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada en la leche para diversos tiempos de mezcla, y los resultados se indican en la siguiente tabla 3.

El colesterol se eliminó en una proporción máxima del 92,48% para un tiempo de mezcla de 5 min. Las mediciones indican que la proporción de eliminación del colesterol fue del 86,94% tras 1 min de mezcla, del 92,01% tras 10 min de mezcla, del 90,44% tras 15 min de mezcla y del 90,42% tras 20 min de mezcla. La continuación más allá de un umbral de tiempo no tuvo ninguna influencia adicional en la capacidad de la β -CD de atrapar el colesterol en su interior, por lo que no aumentó la proporción de eliminación.

TABLA 3: Efecto del tiempo de mezcla en la eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada en la leche

Tiempo de mezcla (min)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
1	86,94
5	92,48
10	92,01
15	90,44
20	90,42

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$),

Factores de eliminación del colesterol: β -CD reticulada 1%, velocidad de agitación 800 rpm, temperatura de mezcla 10°C, contenido de grasa de la crema 3,6%

4) Velocidad de agitación

Se evaluó la proporción de eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada según la velocidad de agitación, y los resultados se indican en la siguiente tabla 4.

El colesterol se eliminó en una proporción máxima del 92,05% a una velocidad de agitación de 400 rpm. La proporción de eliminación del colesterol medida fue del 91,63% a 600 rpm, el 90,81% a 800 rpm, el 88,72% a 1000 rpm y el 87,22% a 1200 rpm. En cuanto a la reducción de la proporción de eliminación del colesterol con el aumento de la velocidad de agitación por encima de 400 rpm, se supone que el estado estable del complejo β -CD-colesterol pasará a un estado inestable por efecto de la agitación excesiva.

En el ejemplo 2, se determinó que las condiciones óptimas para la eliminación del colesterol de la leche por parte de la β -CD reticulada mediante ácido adípico fueron el 1% para la cantidad de β -CD reticulada, 10°C para la temperatura de mezcla, 5 min para el tiempo de mezcla y 400 rpm para la velocidad de mezcla, a las que el colesterol se eliminó en una proporción media del 92,39%.

TABLA 4: Efecto de la velocidad de agitación sobre la eliminación del colesterol de la leche mediante β -CD reticulada

Velocidad de agitación (rpm)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
400	92,05
600	91,63
800	90,81
1.000	88,72
1.200	87,22

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$),

Factores de eliminación del colesterol: β -CD reticulada 1%, temperatura de mezcla 10°C, tiempo de mezcla 10 min, contenido de grasa de la crema 3,6%

Ejemplo 3: Eliminación del colesterol de la crema de leche mediante β -CD reticulada

1) Concentración de β -CD reticulada

Se midió la proporción de eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada según su cantidad, y los resultados se indican en la siguiente tabla 5.

Cuando la β -CD reticulada mediante ácido adípico se utilizó en una cantidad del 10% en peso con respecto al peso de crema de leche, el colesterol se eliminó en una proporción máxima del 90,72%. La proporción de eliminación del colesterol fue del 81,73% para una cantidad del 1% de β -CD reticulada, el 85,32% para una cantidad del 5%, el 90,54% para una cantidad del 15% y el 89,98% para una cantidad del 20%.

TABLA 5: Proporción de eliminación del colesterol según la concentración de β -CD reticulada

β -CD (%)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
1	81,73
5	85,32
10	90,72
15	90,54
20	89,98

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$)

Factores de eliminación del colesterol: temperatura de mezcla 40°C, velocidad de agitación 1400 rpm, tiempo de mezcla 30 min, contenido de grasa de la crema 36%

2) Temperatura de mezcla

Para examinar el efecto de la temperatura sobre la proporción de eliminación del colesterol, la leche se mezcló con la β -CD reticulada mediante ácido adípico a diversas temperaturas, de 40°C a 60°C, y los resultados se indican en la siguiente tabla 6.

Se determinó que la proporción máxima de eliminación del colesterol era del 91,03% a 40°C. De la crema, el colesterol se eliminó en una proporción del 90,56% a 45°C, el 88,72% a 50°C, el 86,32% a 55°C y el 85,01% a 60°C. Habitualmente, la crema se mantiene a 4°C o menos durante su almacenamiento y distribución. A baja temperatura, la viscosidad de la crema aumenta. De hecho, la prueba es difícil de llevar a cabo a una temperatura inferior a 40°C. Por consiguiente, se cree que la temperatura óptima en la que la β -CD puede eliminar el colesterol de la crema es de 40°C. Se supone que la disminución de la proporción de eliminación del colesterol con el aumento de la temperatura de mezcla es atribuible al hecho de que los lípidos se separan de la crema de leche a temperaturas altas y están presentes como capa superior que tiene menos oportunidades de entrar en contacto con la β -CD.

TABLA 6: Efecto de la temperatura de mezcla sobre la eliminación del colesterol de la crema de leche mediante β -CD reticulada

Temperatura de mezcla (°C)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
40	91,03
45	90,56
50	88,72
55	86,32

Temperatura de mezcla (°C)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
60	85,01

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$)

Factores de eliminación del colesterol: β -CD reticulada 10%, velocidad de agitación 1.400 rpm, tiempo de mezcla 30 min, contenido de grasa de la crema 3,6%

3) Tiempo de mezcla

Se evaluó la proporción de eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada en la crema de leche para diversos tiempos de mezcla, y los resultados se indican en la siguiente tabla 7.

El colesterol se eliminó en una proporción máxima del 91,20% para un tiempo de mezcla de 30 min. Las mediciones indican que la proporción de eliminación del colesterol fue del 84,27% tras 10 min de mezcla, del 85,05% tras 20 min de mezcla, del 90,98% tras 40 min de mezcla y del 90,64% tras 50 min de mezcla. La prolongación más allá de un umbral de tiempo no tuvo ninguna influencia adicional en la capacidad de la β -CD de atrapar el colesterol en su interior, por lo que no aumentó la proporción de eliminación.

TABLA 7: Efecto del tiempo de mezcla en la eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada en la crema

Tiempo de mezcla (min.)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
10	84,27
20	85,05
30	91,20
40	90,98
50	90,64

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$),

Factores de eliminación del colesterol: β -CD reticulada 10%, velocidad de agitación 1.400 rpm, temperatura de mezcla 40°C, contenido de grasa de la crema 3,6%

4) Velocidad de agitación

Se evaluó la proporción de eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada según la velocidad de agitación, y los resultados se indican en la siguiente tabla 8.

El colesterol se eliminó en una proporción máxima del 92,74% a una velocidad de agitación de 1.400 rpm. La proporción de eliminación del colesterol medida fue del 85,32% a 800 rpm, el 87,49% a 1.000 rpm, el 90,91% a 1.200 rpm y el 88,82% a 1600 rpm. La proporción de eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada en la crema de leche aumentó con el aumento de la velocidad de agitación. Además, se supone que una velocidad de agitación de 1600 rpm o superior provoca la separación de los lípidos de la crema, que están presentes como capa superior con pocas oportunidades de entrar en contacto con la β -CD.

TABLA 8: Efecto de la velocidad de agitación sobre la eliminación del colesterol de la crema de leche mediante β -CD reticulada

Velocidad de agitación (rpm)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
800	85,32
1.000	87,49
1.200	90,91
1.400	92,74
1600	88,82

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$),

Factores de eliminación del colesterol: β -CD reticulada 10%, temperatura de mezcla 40°C, tiempo de mezcla 30 min, contenido de grasa de la crema 3,6%

En el ejemplo 3, se determinó que las condiciones óptimas para la eliminación del colesterol de la crema de leche por parte de la β -CD reticulada mediante ácido adipico fueron el 10% para la cantidad de β -CD reticulada, 40°C para la temperatura de mezcla, 30 min para el tiempo de mezcla y 1.400 rpm para la velocidad de mezcla, a las que el colesterol se eliminó en una proporción media del 91,42%.

Ejemplo 4: Eliminación del colesterol de la manteca de cerdo mediante β -CD reticulada1) Concentración de β -CD reticulada

5 Para determinar qué cantidad de β -CD reticulada es la más eficaz para reducir el colesterol de la manteca de cerdo, se añadió β -CD reticulada en una cantidad correspondiente al 1%, el 3%, el 5%, el 7% y el 8% en peso con respecto al peso de manteca de cerdo. Se llevaron a cabo pruebas en condiciones de agitación a 150 rpm a 30°C durante 1 h y centrifugación a 240 xg a 27°C durante 15 min.

10 La proporción de eliminación del colesterol resultante de las pruebas se indica en la siguiente tabla 9. Tal como se observa en la tabla 9, las mediciones indican que la β -CD reticulada mediante ácido adípico elimina el colesterol de la manteca de cerdo en una proporción máxima del 93,02% cuando se utiliza en una cantidad del 5% con respecto al peso de manteca de cerdo, en una proporción mínima del 64,05% cuando se utiliza en una cantidad del 1% y en proporciones intermedias del 85,13%, el 92,92% y el 92,58% cuando se utiliza en una cantidad del 3%, el 7% y el 8%, respectivamente.

TABLA 9: Proporción de eliminación del colesterol según la concentración de β -CD reticulada en la manteca de cerdo

β -CD (%)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
1	64,05
3	85,13
5	93,02
7	92,92
19	92,58

¹⁾ sin significación (P < 0,05)

Factores de eliminación del colesterol: temperatura de mezcla 30°C, velocidad de agitación 150 rpm, tiempo de mezcla 1 h, manteca de cerdo 27%

2) Temperatura de mezcla

La manteca de cerdo se solidifica rápidamente a una temperatura inferior a 10°C. Se llevaron a cabo pruebas de mezclado a diferentes temperaturas superiores a 10°C con el fin de evitar la degradación cualitativa de la manteca de cerdo mientras la misma se mantenía en fase líquida. Para examinar el efecto de la temperatura sobre la proporción de eliminación del colesterol, la manteca de cerdo se mezcló con la β -CD reticulada mediante ácido adípico a diversas temperaturas, de 10°C a 50°C, y los resultados se indican en la siguiente tabla 10.

Se determinó que la proporción máxima de eliminación del colesterol era del 92,38% a 30°C. De la manteca de cerdo, el colesterol se eliminó en una proporción del 90,11% a 10°C, el 90,322% a 20°C, el 92,31% a 40°C y el 92,08% a 60°C.

TABLA 10: Efecto de la temperatura sobre la eliminación del colesterol de la manteca de cerdo mediante β -CD reticulada

Temperatura de mezcla (°C)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
10	90,11
20	90,32
30	92,38
40	92,31
50	92,08

¹⁾ sin significación (P < 0,05)

Factores de eliminación del colesterol: β -CD reticulada 5%, velocidad de agitación 150 rpm, tiempo de mezcla 1 h, manteca de cerdo 27%

3) Tiempo de mezcla

Se evaluó la proporción de eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada en la manteca de cerdo para diversos tiempos de mezcla, y los resultados se indican en la siguiente tabla 11.

El colesterol se eliminó en una proporción máxima del 92,01% para un tiempo de mezcla de 1 h. Las mediciones indican que la proporción de eliminación del colesterol fue del 87,14% tras 0,5 h de mezcla, del 91,47% tras 1,5 h de

mezcla y del 91,48% tras 2,0 h de mezcla. La prolongación más allá de un umbral de tiempo no tuvo ninguna influencia adicional en la capacidad de la β -CD de atrapar el colesterol en su interior en comparación con otras condiciones, por lo que no aumentó la proporción de eliminación.

- 5 TABLA 11: Efecto del tiempo de mezcla en la eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada en la manteca de cerdo

Tiempo de mezcla (h)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
0,5	87,14
1,0	92,01
1,5	91,47
2,0	91,47

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$)

- 10 Factores de eliminación del colesterol: β -CD reticulada 5%, velocidad de agitación 150 rpm, temperatura de mezcla 30°C, manteca de cerdo 27%

4) Velocidad de agitación

- 15 Se evaluó la proporción de eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada en la manteca de cerdo según la velocidad de agitación, y los resultados se indican en la siguiente tabla 12.

- 20 El colesterol se eliminó en una proporción máxima del 93,11% a una velocidad de agitación de 150 rpm. La proporción de eliminación del colesterol medida fue del 89,05% a 50 rpm, el 90,48% a 100 rpm, el 93,00% a 200 rpm y el 92,85% a 250 rpm. En cuanto a la reducción de la proporción de eliminación del colesterol con el aumento de la velocidad de agitación por encima de 150 rpm, se supone que el estado estable del complejo β -CD-colesterol pasaría a un estado inestable por efecto de la agitación excesiva.

- 25 En el ejemplo 4, se determinó que las condiciones óptimas para la eliminación del colesterol de la manteca de cerdo por parte de la β -CD reticulada mediante ácido adípico fueron el 5% para la cantidad de β -CD reticulada, 30°C para la temperatura de mezcla, 1 h para el tiempo de mezcla y 150 rpm para la velocidad de mezcla, a las que el colesterol se eliminó en una proporción media del 92,63%.

- 30 TABLA 12: Efecto de la velocidad de agitación sobre la eliminación del colesterol de la manteca de cerdo mediante β -CD reticulada

Velocidad de agitación (rpm)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
50	89,05
100	90,48
150	93,11
200	93,00
250	92,85

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$),

- 35 Factores de eliminación del colesterol: β -CD reticulada 5%, temperatura de mezcla 30°C, tiempo de mezcla 1 h, manteca de cerdo 27%

Ejemplo 5: Eliminación del colesterol de la yema de huevo mediante β -CD reticulada

- 40 1) Concentración de β -CD reticulada

- 45 Para determinar qué cantidad de β -CD reticulada es la más eficaz para reducir la cantidad de colesterol en la yema de huevo, la β -CD reticulada se añadió en una cantidad correspondiente al 10%, el 15%, el 20%, el 25% y el 30% en peso con respecto al peso de yema de huevo, teniendo en cuenta su contenido excesivo de colesterol. Se llevaron a cabo pruebas en condiciones de agitación a 800 rpm a 40°C durante 30 min y centrifugación a 520 xg a 20°C durante 10 min. La proporción de eliminación del colesterol resultante de las pruebas se indica en la siguiente tabla 13.

- 50 Tal como se observa en la tabla 13, las mediciones indican que la β -CD reticulada mediante ácido adípico elimina el colesterol de la yema de huevo en una proporción máxima del 95,75% cuando se utiliza en una cantidad del 25% con respecto al peso de yema de huevo, en una proporción mínima del 78,53% cuando se utiliza en una cantidad del 10%, y en proporciones intermedias del 82,73%, el 93,28% y el 93,68% cuando se utiliza en una cantidad correspondiente al 15%, el 20% y el 30%, respectivamente. Cuando se tuvo en cuenta la rentabilidad económica, la

cantidad óptima fue del 20%.

TABLA 13: Proporción de eliminación del colesterol según la concentración de β -CD reticulada en la yema de huevo

β -CD (%)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
10	78,53
15	82,73
20	93,28
25	95,75
30	93,68

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$),

Factores de eliminación del colesterol: temperatura de mezcla 40°C, velocidad de agitación 800 rpm, tiempo de mezcla 30 min

2) Temperatura de mezcla

A fin de evaluar el efecto de la temperatura sobre la proporción de eliminación del colesterol, la yema de huevo se mezcló con la β -CD a diversas temperaturas, y los resultados se indican en la siguiente tabla 14.

De la yema de huevo, el colesterol se eliminó en una proporción del 82,69% a 30°C, el 87,99% a 35°C, el 90,05% a 40°C, el 88,07% a 45°C y el 88,15% a 50°C. Se determinó que la temperatura óptima era 40°C, a la que se obtuvo la máxima proporción de eliminación del colesterol.

TABLA 14: Efecto de la temperatura sobre la eliminación del colesterol de la yema de huevo mediante β -CD reticulada

Temperatura de mezcla (°C)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
30	82,69
35	87,99
40	90,05
45	88,07
50	88,15

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$),

Factores de eliminación del colesterol: β -CD reticulada 20%, velocidad de agitación 800 rpm, temperatura de mezcla 30 min

3) Tiempo de mezcla

Se evaluó la proporción de eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada en la yema de huevo para diversos tiempos de mezcla, y los resultados se indican en la siguiente tabla 15.

El colesterol se eliminó en una proporción máxima del 91,49% para un tiempo de mezcla de 30 min. Las mediciones indican que la proporción de eliminación del colesterol fue del 84,54% tras 10 min de mezcla, del 88,07% tras 20 min de mezcla, del 91,39% tras 40 min de mezcla y del 78,92% tras 50 min de mezcla. Por consiguiente, se determinó que 30 min es el periodo óptimo para la eliminación del colesterol de la yema de huevo.

TABLA 15: Efecto del tiempo de mezcla en la eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada en la yema de huevo

Tiempo de mezcla (min.)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
10	84,54
20	88,07
30	91,49
40	91,30
50	78,92

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$),

Factores de eliminación del colesterol: β -CD reticulada 20%, velocidad de agitación 800 rpm, temperatura de mezcla 40°C

4) Velocidad de agitación

Se evaluó la proporción de eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada en la yema de huevo según la velocidad de agitación, y los resultados se indican en la siguiente tabla 16.

El colesterol se eliminó en una proporción máxima del 91,64% a una velocidad de agitación de 800 rpm. La proporción de eliminación del colesterol medida fue del 85,10% a 400 rpm, el 90,50% a 600 rpm, el 88,59% a 1.000 rpm y el 75,89% a 1.200 rpm.

TABLA 16: Efecto de la velocidad de agitación sobre la eliminación del colesterol de la yema de huevo mediante β -CD reticulada

Velocidad de agitación (rpm)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
400	85,10
600	90,50
800	91,64
1.000	88,59
1.200	75,89

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$),

Factores de eliminación del colesterol: β -CD reticulada 20%, temperatura de mezcla 40°C, tiempo de mezcla 30 min

5) Factor de dilución

Se evaluó la proporción de eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada para diversas diluciones de la yema de huevo en agua destilada, y los resultados se indican en la siguiente tabla 17.

El colesterol se eliminó en una proporción máxima del 94,55% cuando la yema de huevo se diluyó en un volumen idéntico de agua destilada. Se determinó una proporción de eliminación del colesterol del 76,52% en una mezcla 1:0,5 de yema de huevo con respecto a agua destilada, el 93,24% en una mezcla 1:1,5 de yema de huevo con respecto a agua destilada, el 93,53% en una mezcla 1:2 de yema de huevo con respecto a agua destilada y el 84,61% en una mezcla 1:3 de yema de huevo con respecto a agua destilada.

TABLA 17: Eliminación del colesterol de la yema de huevo mediante β -CD reticulada según el factor de dilución

Yema de huevo: Agua de dilución	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
1:0,5	76,52
1:1	94,55
1:1,5	93,24
1:2	93,53
1:3	84,61

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$),

Factores de eliminación del colesterol: β -CD reticulada 20%, temperatura de mezcla 40°C, tiempo de mezcla 30 min

6) Velocidad de centrifugación

Se evaluó la proporción de eliminación del colesterol por parte de la β -CD reticulada en la yema de huevo para diversas velocidades de centrifugación, y los resultados se indican en la siguiente tabla 18. Cuando se centrifugó la yema de huevo a 460 xg, la β -CD reticulada mostró una proporción máxima de eliminación del colesterol del 90,92%. Las proporciones de eliminación del colesterol medidas fueron del 89,60% a 400 xg, el 89,30% a 520 xg, el 89,27% a 580 xg y el 7,88% a 640 xg. una velocidad de 460 xg es óptima para la eliminación del colesterol de la yema de huevo.

En el ejemplo 5, se determinó que las condiciones óptimas para la eliminación del colesterol de la yema de huevo por parte de la β -CD reticulada mediante ácido adípico fueron el 20% para la cantidad de β -CD reticulada, 1:1 para el factor de dilución en agua destilada, 40°C para la temperatura de mezcla, 30 min para el tiempo de mezcla, 800 rpm para la velocidad de mezcla y 460 xg para la velocidad de centrifugación, a las que el colesterol se eliminó en una proporción media del 92,70%.

TABLA 18: Eliminación del colesterol de la yema de huevo mediante β -CD reticulada

Velocidad de centrifugación (xg)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
400	89,60
460	90,92
520	89,30
580	89,27
640	87,88

¹⁾ sin significación (P < 0,05),

Factores de eliminación del colesterol: β -CD reticulada 20%, temperatura de mezcla 40°C, tiempo de mezcla 30 min

Ejemplo 6 de referencia: Recuperación y reciclaje de la β -CD reticulada

Para evaluar la eficiencia de reciclaje de la β -CD reticulada en la leche y la crema de leche, se recuperaron los complejos β -CD-colesterol, se mezclaron en una relación de volumen de 6:1 con una mezcla de disolventes orgánicos (ácido acético:isopropanol = 3:1) y se trataron durante 10 min en un limpiador ultrasónico. Mientras se agitaban durante 2 horas a 50°C y 100 rpm, se extrajeron muestras cada 5 min y se dejaron reposar durante 5 min.

Las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y se centrifugaron a 630 xg durante 5 min a fin de precipitar la β -CD, seguido por el secado del precipitado a 50°C durante 6 horas en un horno seco a fin de recuperar la β -CD.

Se evaluó la eficiencia de reciclaje de la β -CD regenerada con disolventes orgánicos en la leche, y los resultados se indican en la siguiente tabla 19. Tras el primer ciclo de regeneración, se midió una eficiencia de reciclaje de la β -CD reticulada del 100% o mayor. Incluso tras el quinto ciclo de regeneración, la β -CD regenerada mostró una eficiencia de reciclaje del 100% o mayor. Hasta el quinto ciclo de regeneración, la β -CD regenerada se recicló casi a la perfección. La eficiencia de reciclaje de la β -CD regenerada fue del 90,94% tras el noveno ciclo de regeneración, y del 88,13% tras el décimo ciclo de regeneración, con un 97,30% de promedio en la leche.

TABLA 19: Eliminación del colesterol mediante la β -CD reticulada regenerada a partir de la leche

Ciclos de regeneración	Eficiencia de reciclaje (%)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
1 ^o	100,13	92,51
2 ^o	99,92	92,32
3 ^o	99,72	92,13
4 ^o	99,81	92,21
5 ^o	100,03	92,42
6 ^o	99,39	91,83
7 ^o	98,04	90,58
8 ^o	96,88	89,51
9 ^o	90,94	84,02
10 ^o	88,13	81,42
Promedio	97,30	89,90

¹⁾ sin significación (P < 0,05),

Condiciones de regeneración: disolvente orgánico (ácido acético:isopropanol = 3:1): β -CD = 6:1, velocidad de centrifugación 1500 rpm, tiempo de centrifugación 5 min, tiempo de secado 6 h, contenido de grasa 3,6%

Ejemplo 7 de referencia: Eliminación del colesterol de la crema de leche mediante β -CD reticulada regenerada

La β -CD reticulada regenerada como en el ejemplo 6 se aplicó a la crema de leche, y los resultados se indican en la siguiente tabla 20.

Tras el primer ciclo de regeneración, se midió una eficiencia de reciclaje de la β -CD reticulada del 100% o mayor. Además, tras el tercer ciclo de regeneración, la β -CD regenerada mostró una eficiencia de reciclaje del 100,02%. Por consiguiente, hasta el tercer ciclo de regeneración, la β -CD regenerada se recicló casi a la perfección. La eficiencia de reciclaje de la β -CD regenerada fue del 90,27% tras el décimo ciclo de regeneración, con un valor de hasta el 97,82% de promedio en la crema de leche.

TABLA 20: Eliminación del colesterol mediante la β -CD reticulada regenerada a partir de la crema de leche

Ciclo de regeneración	Eficiencia de reciclaje (%)	Proporción de eliminación del colesterol (%) ¹⁾
1 ^o	100,03	91,45
2 ^o	99,96	91,38
3 ^o	100,02	91,44
4 ^o	98,94	90,45
5 ^o	98,91	90,42
6 ^o	99,19	90,68
7 ^o	97,79	89,40
8 ^o	97,57	89,20
9 ^o	94,55	86,44
10 ^o	90,27	83,40
Promedio	97,82	89,43

¹⁾ sin significación ($P < 0,05$),

Condiciones de regeneración: disolvente orgánico (ácido acético:isopropanol = 3:1): β -CD = 6:1, velocidad de centrifugación 1.500 rpm, tiempo de centrifugación 5 min, tiempo de secado 6 h, contenido de grasa 3,6%

Ejemplo 8: Yogur

Para la aplicación de la β -CD reticulada al yogur, se añadió β -CD reticulada en una cantidad del 1% a la leche, seguido de agitación (10°C, 5 min, 400 rpm) y centrifugación (25°C, 10 min, 140 xg). La leche se homogeneizó a una presión de 1.000 psi a 50°C y se le añadió leche sin materia grasa en una cantidad del 3,7% y un cultivo iniciador en una cantidad del 0,02% a 40°C. La mezcla de leche se fermentó a 43°C durante 6 horas en una incubadora, se estabilizó a 10°C durante un día y se almacenó a 4°C. Tras extraer 1 g de la leche fermentada, se analizó cuantitativamente mediante cromatografía de gases y se determinó que el colesterol se había eliminado en una proporción del 91,38%.

Ejemplo 9: Nata para montar

A partir de leche cruda pasteurizada a 72°C durante 15 min, se separó la crema a 55°C y se normalizó a una crema con un contenido de lípidos del 36%. La crema se incubó durante una noche a 5°C y se le añadió β -CD reticulada en una cantidad del 10%, seguido de agitación (40°C, 30 min, 1.400 rpm) y centrifugación (25°C, 10 min, 140 xg). Se llevó a cabo un tratamiento con un emulsionante (α -celulosa 0,2%, Avicell 0,2%, alginato de sodio 0,2%, éster de azúcar 0,1%, sacarosa 0,3%) seguido de homogeneización a 60°C a una presión de 100 psi. La crema homogeneizada se enfrió a 4°C y se dejó madurar durante 24 horas. La crema se emulsionó utilizando EGS tipo 06 (E3290 modelo 296, Alemania). La cromatografía de gases de 1 g de la crema mostró una eliminación del colesterol en una proporción del 88,94%.

Ejemplo 10: Mantequilla

Se añadió β -CD reticulada en una cantidad del 10% a la crema de leche con un contenido de lípidos del 36% y a continuación se agitó (40°C, 30 min, 1.400 rpm). Se llevó a cabo una centrifugación (25°C, 10 min, 140 xg) a fin de eliminar el colesterol y la β -CD reticulada de la crema. Tras la incubación durante un día, la crema se batió a 8-10°C a velocidad constante. Cuando comenzaron a formarse partículas de mantequilla, el batidor se hizo girar durante 10 vueltas a una velocidad menor y se extrajo el suero de mantequilla resultante. A continuación, el batidor se lavó a velocidades bajas con agua de refrigeración en la misma medida que el suero de mantequilla extraído. Las partículas de mantequilla acumuladas se amasaron para eliminar completamente el agua y se añadió sal en una cantidad del 1% con respecto a la mantequilla. Tras darle forma en un molde, la mantequilla se envasó al vacío y se almacenó a -20°C. La cromatografía de gases de 1 g de la mantequilla mostró una eliminación del colesterol en una proporción del 91,10%.

Ejemplo 11: Queso cheddar

A partir de leche cruda pasteurizada a 72°C durante 15 min, se separó la crema a 55°C y se normalizó a un contenido de materia grasa del 36%. Se añadió β -CD reticulada en una cantidad del 10% con respecto a la cantidad de crema a fin de eliminar el colesterol, seguido de centrifugación (25°C, 10 min, 140 xg). La crema baja en colesterol se mezcló con leche sin materia grasa, se homogeneizó a una presión de 1.000 psi, se mezcló uniformemente a 32°C con un cultivo iniciador (0,004%) y se dejó reposar durante 30 min. Tras la adición de CaCl_2 al 10% (0,03%) y cuajo (0,19%), se dejó un periodo de reposo de 45 min. Cuando se formaron cuajadas apropiadamente, se cortaron y se agitó lentamente durante 15 min, y a continuación se calentó a intervalos regulares a 38°C durante 30 min. Cuando se alcanzó una acidez del 0,15-0,17%, se evacuó el suero. Tras apilar las cuajadas a lo largo de la cara interior de una tina de queso, se repitió un proceso de cheddarización a intervalos de

15 min hasta que la acidez alcanzó el 0,5%. Tras la terminación del proceso de cheddarización, las cuajadas se molieron y a continuación se añadió sal en una cantidad del 2,0%. Las cuajadas de queso se dejaron en moldes de aro durante una noche a una presión de 2,5 kg/cm². Los bloques de queso resultantes se cortaron a un tamaño predeterminado, se envasaron al vacío y se maduraron a 7°C.

La cromatografía de gases de 1 g del queso cheddar mostró una eliminación del colesterol en una proporción del 88,24%.

Ejemplo 12: Queso mozzarella

A partir de la leche cruda con un 3,6% de materia grasa pasteurizada a 72°C durante 15 min, se separó la crema a 55°C y se normalizó a un contenido de materia grasa del 36%. Se añadió β-CD reticulada en una cantidad del 10% con respecto a la cantidad de crema a fin de eliminar el colesterol, seguido de agitación (40°C, 30 min, 1.400 rpm) y centrifugación (25°C, 10 min, 140 xg). La crema tratada con β-CD se mezcló con leche sin materia grasa, se homogeneizó a una presión de 70 kg/cm², se mezcló uniformemente a 20°C con un 0,004% de un cultivo iniciador y un 0,03% de CaCl₂ al 10% y se dejó reposar durante 30 min. La adición de un 0,019% de cuajo fue seguida por un período de reposo de 30 min a fin de formar cuajadas que a continuación se cortaron con un cuchillo de cuajada y se dejaron reposar durante 15 min. La masa de cuajada se calentó a 45°C durante 40 min. Cuando se alcanzó una acidez del 0,18-0,19%, se evacuó el suero. Siempre que la acidez del suero fue del 0,23%, las cuajadas de queso se lavaron con la misma cantidad de agua, calentada a 45°C, que la cantidad de suero evacuado. A una acidez del suero del 0,5%, se dio la vuelta a las cuajadas a intervalos de 15 min y a continuación se calentaron a 75°C. Las cuajadas se hilaron durante aproximadamente 10 min y se enfriaron a 4°C durante 2 horas. Tras macerarse durante 2 horas en una solución salina al 23%, la masa de cuajada se envasó al vacío y se almacenó a 4°C.

La cromatografía de gases de 1 g del queso mozzarella mostró una eliminación del colesterol en una proporción del 86,98%.

Ejemplo 13: Queso cremoso

Se pasteurizó leche cruda a 72°C durante 15 segundos y la crema se separó a 55°C. La crema se normalizó a un contenido de materia grasa del 36% y se mezcló con un 10% de β-CD reticulada con agitación (40°C, 30 min, 1.400 rpm), seguido de centrifugación (25°C, 10 min, 140 xg). Esta crema se normalizó de nuevo a un contenido de materia grasa del 11% y se homogeneizó a 50°C a una presión de 680 psi. Tras enfriar a 30°C, la crema se mezcló con un 0,05% de un cultivo iniciador y se dejó reposar durante 30 min. Tras la adición de un 0,005% de cuajo y un 0,03% de CaCl₂, se dejó un periodo de reposo de 30 min. La cuajada resultante se cortó con un cuchillo y se incubó a 30°C durante 6 horas, hasta que la acidez del suero alcanzó un valor de pH de 4,7. Tras un tratamiento térmico a 45°C de 20 min, el suero se evacuó y se dio la vuelta a las cuajadas 1 y 2 horas después de la evacuación. La incubación se llevó a cabo a 28°C durante 4 horas y a continuación a 20°C durante una noche. Se añadió un 1% de sal antes del almacenamiento a 4°C.

La cromatografía de gases de 1 g del queso cremoso mostró una eliminación del colesterol en una proporción del 91,36%.

Ejemplo 14: Queso azul

Se pasteurizó leche cruda a 72°C durante 15 segundos y la crema se separó a 55°C. La crema se normalizó a un contenido de materia grasa del 36% y se mezcló con un 10% de β-CD reticulada con agitación (40°C, 30 min, 1.400 rpm), seguido de centrifugación (25°C, 10 min, 140 xg). Esta crema se homogeneizó de nuevo, primero a una presión de 500 psi y a continuación a una presión de 1.000 psi. La crema se mezcló con leche sin materia grasa y un 2% de un cultivo iniciador, y se dejó reposar durante 1 hora. Tras la adición de un 0,0154% de cuajo se dejó un periodo de reposo de 30 min. La cuajada resultante se cortó con un cuchillo de cuajada a un tamaño predeterminado. Los trozos se calentaron a 30°C hasta que la acidez del suero de leche aumentó al 0,03%. Durante el calentamiento, las cuajadas se agitaron cada cinco minutos y se calentaron a 33°C inmediatamente antes de la evacuación del suero. Se añadieron un 2% de sal y un 0,061% de *Penicillium roqueforti* a las cuajadas, a las que a continuación se dio la vuelta en intervalos de 15 min durante 2 horas. Tras una incubación de una noche, las cuajadas se salaron cuatro o más veces durante 5 días. 6 días después de la incubación, el queso se envolvió con Cryovac, que se perforó en un diámetro de 0,3 cm utilizando una aguja, y se maduró. Al cabo de un periodo de maduración adecuado, el queso se volvió a envolver con papel de aluminio y se almacenó a 2,2°C.

La cromatografía de gases de 1 g del queso azul mostró una eliminación del colesterol en una proporción del 89,26%.

Ejemplo 15: Queso feta

Se pasteurizó leche cruda a 72°C durante 15 segundos y la crema se separó a 55°C. La crema se normalizó a un contenido de materia grasa del 36% y se mezcló con un 10% de β-CD reticulada con agitación (40°C, 30 min, 1.400

rpm), seguido de centrifugación (25°C, 10 min, 140 xg). Esta crema se normalizó de nuevo a un contenido de materia grasa del 5% y se homogeneizó a una presión de 500 psi. Tras enfriarse a 32°C, la crema se mezcló con un 0,02% de un cultivo iniciador. Al cabo de una hora, tras la adición de un 0,02% de cuajo se dejó un periodo de reposo de 30 min. La cuajada resultante se cortó con un cuchillo, se dejó reposar durante 20 min y se agitó bien durante 20 min. Tras la incubación a un pH de 4,6, la cuajada se exprimó en un recipiente durante 20 horas. La cuajada se cortó a un tamaño predeterminado, se maceró en una solución salina al 23% y se espolvoreó con partículas de sal en bruto en una cantidad del 14% antes de la maduración durante 2-3 meses.

La cromatografía de gases de 1 g del queso feta mostró una eliminación del colesterol en una proporción del 90,86%.

Ejemplo 16: Helado

Una crema con un contenido de materia grasa del 26% se mezcló con un 10% de β -CD reticulada con agitación (40°C, 30 min, 1.400 rpm), seguido de centrifugación (25°C, 10 min, 140 xg). En un tanque de mezcla mantenido a 50°C, la crema se mezcló con leche en polvo sin materia grasa, azúcar, un estabilizante (carboximetilcelulosa) y agua. La mezcla se pasteurizó a 72°C durante 15 min y se homogeneizó a 60°C en dos etapas (1°, 175 kg/cm²; 2°, 35 kg/cm²), seguido de maduración a 4°C durante 24 horas. En un congelador de helados, se mantuvo el helado a -3,8°C durante 7 minutos, se envasó a -20°C y se mantuvo a -26°C durante 2 horas antes de su almacenamiento a -20°C durante unas semanas.

La cromatografía de gases de 1 g del helado mostró una eliminación del colesterol en una proporción del 88,46%.

Ejemplo 17: Embutido

Se utilizó manteca de cerdo como material para la elaboración de embutidos. Se mezclaron 100 g de manteca de cerdo con un 5% de β -CD reticulada y con una cantidad idéntica de agua. Tras agitar a 27°C a 150 rpm durante 1 hora, se llevó a cabo una centrifugación a 230 xg durante 15 min a fin de extraer la manteca baja en colesterol. A esta manteca se le añadió un 2% de NaCl y un agente colorante (0,1% de KNO₃ y 0,01% de NaNO₂). Tras el almacenamiento a 4°C durante 3 días, la manteca solidificada se trituró a 10°C o menos. En un recipiente frío, la manteca se mezcló con un 20% de agua enfriada y se cortó a 10°C durante 10 min. Este material se mezcló bien con especias, aglutinantes, condimentos, antioxidantes y colorantes comestibles, y a continuación con un 5% de almidón de maíz. La mezcla se llevó a cabo cuidadosamente durante 10 min a fin de que no se infiltrara aire. Cuando la mezcla comenzó a ser viscosa, se detuvo el mezclado. La mezcla resultante se envolvió con película Kureharon, se sometió a tratamiento térmico a 63°C durante 30 min y se envasó al vacío a 4°C.

La cromatografía de gases de 1 g del embutido mostró una eliminación del colesterol en una proporción del 92,02%.

Ejemplo 18: Mayonesa

Se tomaron huevos marrones, se separó la yema de la clara, y la yema se hizo pasar a través de un tamiz de malla 50 a fin de eliminar la membrana vitelina y las chalazas. La yema de huevo limpia se diluyó en un volumen idéntico de agua destilada, se mezcló con un 10% de β -CD reticulada a 20°C durante 10 min con agitación a 400 rpm y se centrifugó a 20°C a 140 xg durante 10 minutos a fin de eliminar los complejos β -CD-colesterol. Con un mezclador, se mezclaron 140 g de la yema de huevo baja en colesterol con pequeñas cantidades de azúcar y sal, y a continuación con 800 ml de aceite de soja y 35 ml de vinagre de forma alterna. Tras completarse la emulsión, se llevó a cabo una mezcla a velocidad baja a fin de obtener mayonesa.

La cromatografía de gases de 1 g de la mayonesa mostró una eliminación del colesterol en una proporción del 87,90%.

Aplicabilidad industrial

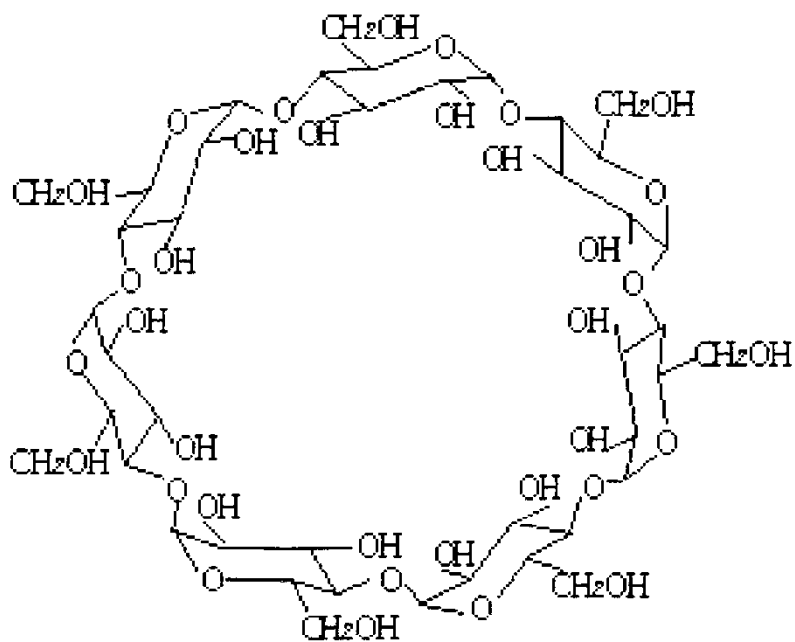
El tratamiento con la β -CD reticulada con ácido adípico, tal como se ha descrito anteriormente, puede eliminar el colesterol en cantidades máximas del 91% en la crema de leche, el 93% en la manteca de cerdo y el 95% en la yema de huevo.

Por consiguiente, la presente invención puede contribuir a la salud de las personas, proporcionando productos alimenticios bajos en colesterol, tales como productos lácteos, productos cárnicos o productos de huevo.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la eliminación del colesterol de los alimentos, que comprende tratar el alimento que contiene colesterol con una beta-ciclodextrina reticulada a fin de atrapar el colesterol en la beta-ciclodextrina, y separar el complejo beta-ciclodextrina reticulada-colesterol,
5 en el que el agente de reticulación es un ácido adípico,
10 en el que la beta-ciclodextrina reticulada se utiliza en una cantidad de 0,5% a 30% en peso, con respecto al peso total de alimento que contiene colesterol,
15 en el que la etapa de tratamiento se lleva a cabo haciendo reaccionar la beta-ciclodextrina reticulada con el alimento que contiene colesterol a 30-50°C durante 1-40 min con agitación a 50-1600 rpm,
20 en el que el alimento que contiene colesterol se selecciona entre el grupo que consiste en productos lácteos, productos cárnicos y productos de huevo, y en el que los productos lácteos se seleccionan entre el grupo que consiste en crema, mantequilla, helado, yogur y productos de queso.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que los productos cárnicos incluyen la manteca de cerdo y los productos de tipo embutido.
3. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que los productos de huevo incluyen los huevos de aves de corral, la yema de huevo y los productos de mayonesa.

[Fig. 1]



[Fig. 2]

