

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL** (11) **240850**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **426837**

(22) Data zgłoszenia: **29.08.2018**

(51) Int.Cl.

A23L 19/12 (2016.01)

A23L 3/44 (2006.01)

A23L 3/46 (2006.01)

A23L 33/17 (2016.01)

A23L 33/18 (2016.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(54)

Sposób otrzymywania prozdrowotnego preparatu białkowego

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

09.03.2020 BUP 06/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

13.06.2022 WUP 24/22

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIWERSYTET PRZYRODNICZY
W POZNANIU, Poznań, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**WOJCIECH BIAŁAS, Luboń, PL
PRZEMYSŁAW KOWALCZEWSKI,
Wągrowiec, PL
GRAŻYNA LEWANDOWICZ, Poznań, PL
ANNA OLEJNIK, Poznań, PL
ALEKSANDER SIGER, Poznań, PL
KRZYSZTOF DWIECKI, Poznań, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzec. pat. Bartłomiej Fijałkowski

PL 240850 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania prozdrowotnego preparatu białkowego.

Celem prawidłowego odżywiania jest spożywanie odpowiedniej ilości właściwych pokarmów zapewniających równowagę metaboliczną organizmu. Niestety pomimo obserwowanej w skali globalnej epidemii otyłości, znaczna część populacji ludzkiej cierpi na niedożywienie jakościowe. Oznacza to, że pomimo pokrycia zapotrzebowania organizmu na energię nadal występują braki dotyczące przede wszystkim dotyczące ilości spożywanego białka, witamin, składników mineralnych oraz substancji bioaktywnych takich jak np. polifenole, fosfolipidy, prebiotyki, antocyjany, czy izoprenoidy. W odniesieniu do białek istotne jest również czy są one pełnowartościowe tzn. zawierające wszystkie aminokwasy w odpowiednich ilościach oraz w odpowiednim wzajemnym stosunku. Białkami pełnowartościowymi są przede wszystkim białka zwierzęce (zawarte m. in. w jajach, mięsie i mleku). Większość białek roślinnych nie spełnia wymogu dostarczenia odpowiedniej ilości aminokwasów egzogennych, czyli niewytwarzanych przez organizm ludzki. Dotyczy to przede wszystkim powszechnie spożywanych białek zbóż. W świetle powyższych faktów zaspokojenie zapotrzebowania na pełnowartościowe białko jest globalnym problemem technologicznym i ekonomicznym.

Białko ziemniaka jest uznawane za jedno z najbardziej wartościowych białek roślinnych ze względu na wysoką zawartość aminokwasów niezbędnych [Nowotny F. (red.) *Technologia przetwórstwa ziemniaczanego*. WNT, Warszawa 1972]. Białko ziemniaczane, mimo jego wysokiej wartości odżywczej, nie było dotychczas stosowane w żywieniu ludzi. Jest to związane z faktem, iż dotychczas stosowane technologie nie pozwalają na otrzymanie produktu atrakcyjnego organoleptycznie, charakteryzującego się formą atrakcyjną dla konsumentów. Stosowane przemysłowo technologie opierają się na termicznej koagulacji białka ziemniaczanego.

Sposób opisany w patencie **PL 126 333** polega na zakwaszeniu soku z ziemniaka do pH ok. 5,0, następnie ogrzaniu jej do 105–120°C na czas nie dłuższy niż 10 min. i schłodzeniu do 90–98°C. Otrzymany koagulat poddaje się rozprężaniu a następnie odwirowaniu oraz suszeniu. Nieco zmodyfikowany sposób koagulacji termicznej opisano w patencie **PL nr 171599**.

W wyniku tej technologii uzyskuje się trzy frakcje białkowe: Pierwszą w wyniku ogrzewania do w temperaturze 45°C w ciągu 19 minut, drugą w temperaturze 75°C przez 0,5 godziny i trzecią – w temperaturze wrzenia w ciągu 1 godziny. Każdą z wydzielonych i ogrzanych frakcji przedmucha się powietrzem lub żywą parą od 5 minut do 3 godzin a następnie płucze się alkoholem o stężeniu od 5 do 35% i wodą, po czym odwirowuje się albo suszy. Twórcy deklarują, iż preparat może być stosowany nie tylko, jako pasza dla zwierząt, ale również jako produkt spożywczy, jednak technologia ta nie została wdrożona do praktyki przemysłowej.

Innym przykładem jest opis patentu **PL 184453** jaki dotyczy otrzymywania białka ziemniaczanego jako składnika pasz dla zwierząt. Jego specyfiką jest poddanie skoagulowanego białka dodatkowej obróbce kwasami nieorganicznymi. Również tak technologia nie została wdrożona do praktyki przemysłowej. Sposób otrzymywania białkowego preparatu dla zwierząt opisano również w patencie amerykańskim *Purified heat-coagulated potato protein for use in animal feed*, **US 6042872**. Ze względu na niezadowalające właściwości funkcjonalne tak otrzymanego preparatu białkowego proces koagulacji termicznej stosuje się wyłącznie ze względów ekologicznych (po to, aby obniżyć ładunek ścieków pochodzących z krochmalni).

Podobny proces opisano w patencie **US 5573795**, jednak w procesie obróbki termicznej nie wykorzystuje się samego soku z ziemniaka, ale całość strumienia ścieków powstających w zakładzie przerobu ziemniaków na frytki i chipsy. W ciąg przerobu ścieków włączona jest również obróbka za pomocą enzymów hydrolitycznych.

Nowsze opracowania wskazują nie tylko na wysoką wartość odżywczą białek ziemniaka, ale również aktywność zawartych w nich inhibitorów proteaz. Ogólnie zawarte w soku ziemniaka białka można podzielić dzieli się na trzy grupy: patatyny – białka zapasowe o masie cząsteczkowej 39–45 kDa (30–40%); inhibitory proteaz – białka o masie cząsteczkowej 4–25 kDa, (50%); inne białka – o masie cząsteczkowej ok. 50 kDa (10–20%) [Bartova V., Barta J. 2009. *Chemical composition and Nutritional Value of Protein Concentrates Isolated form Poatato (Solanum tuberosum L.) Fruit Juice by Precipitation with Ethanol or Ferric Chloride*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 9028–9034]. Ponieważ, zgodnie z aktualnym stanem wiedzy, aktywność biologiczna białek jest uwarunkowana zachowaniem ich w postaci niezdenaturowanej, aktualne technologie koncentrują się na otrzymaniu preparatów naturalnego białka ziemniaczanego.

W opisie patentowym **EP 1920662** proces otrzymywania izolatu natywnego białka ziemniaka, polegający w pierwszym etapie na flokulacji soku ziemniaka dwuwartościowym kationem metalu przy pH 7-9 i odwirowaniu osadu. Rozpuszczalne białka zawarte w supernatancie adsorbują się chromatograficznie przy pH niższym niż 11 i w temperaturze 5–35°C a następnie wymywa w odpowiednich warunkach pH w zależności od punktu izoelektrycznego białka, które ma być wyizolowane. Sposób wg powyższego rozwiązania obejmuje też usuwanie glikoalkaloidów w drodze ultrafiltracji. Szczegółowe, dostosowane do właściwości poszczególnych frakcji białkowej, warunki elucji ze złoża chromatograficznego umożliwiają otrzymanie poszczególnych frakcji białek ziemniaka. Twórcy opracowania deklarują zastosowanie preparatów białkowych zarówno farmaceutyczne jak i spożywcze, jednak to ostatnie może być ograniczone ze względu na koszty wieloetapowego sposobu otrzymywania produktu.

W **europejskim** opisie patentowym **nr 1003785 ograniczono** się do otrzymywania tylko do jednej frakcji białek ziemniaka tj. stabilnych termicznie inhibitorów proteaz. Proces polega na ekstrakcji tej frakcji białkowej za pomocą roztworów wodno-alkoholowych z tkanek roślinnych oraz jej wydzieleniu w drodze dializy.

Natomiast w patencie **WO/1997/042834 (PCT/EP1997/002596)** opisano sposób otrzymywania niezdenaturowanego białka ziemniaczanego polegający na tym, że frakcję zawierającą niedenaturowane białko ziemniaczane poddaje się zatężaniu w drodze flokulacji związkami wapnia i fosforu lub alternatywnie w drodze ultrafiltracji i diafiltracji, a następnie liofilizuje.

Świeżo wyciśnięty sok z ziemniaka był stosowany w tradycyjnej europejskiej medycynie ludowej do leczenia wrzodów żołądka. Na szerszą skalę kurację z zastosowaniem tego środka zapoczątkował już pod koniec XIX wieku szwajcarski lekarz Maximilian Bircher-Benner. Aktywność leczniczą soku z ziemniaka przypisuje się głównie przeciwzapalnemu działaniu frakcji inhibitorów proteaz [Ruseler-van Embden J. G. H., van Lieshout L. M. C, Laman J. D. 2004. Methods and means for preventing or treating inflammation or pruritis. US Patent 6723354]. Tym niemniej wskazywano również na działanie cytotoksyczne frakcji bezbiałkowej soku z ziemniaka [Lewandowicz G., Kowalczewski P., Białas W., Olejnik A., Rychlik J. **2012**. Rozdział frakcji soku ziemniaczanego różniących się masą cząsteczkową i charakterystyka ich aktywności biologicznej. Biuletyn IHAR 266, 331–344].

Barierą w spożywczym zastosowaniu białek z ziemniaka są z jednej strony niezadowalające właściwości funkcjonalne produktów otrzymywanych na skale przemysłową a z drugiej strony zbyt wysoka zawartość toksycznych glikoalkaloidów. W odpowiedzi na powyższe problemy w patencie amerykańskim **US 7972647** opisano metodę poprawy właściwości funkcjonalnych białka ziemniaczanego otrzymanego w procesie koagulacji termicznej. Polega ona na obróbce tego materiału w pH powyżej 7. Natomiast w patencie **US 9526266** opisano sposób usuwania glikoalkaloidów z roztworów białek roślinnych, szczególnie z ziemniaków i słodkich ziemniaków za pomocą węgla aktywnego w środowisku kwaśnym (pH = 3,0–4,5) a następnie odfiltrowanie osadu. W dalszych etapach procesu izoluje się natywne białko ziemniaczane tak jak w patencie **EP 1920662** czyli przez koagulację jonami dwuwartościowymi, wirowanie i separację chromatograficzną.

Proponowane metody utylizacji soku ziemniaczanego dotyczą głównie zastosowań przemysłowych, takich jak: produkcja naturalnych barwników (Pat. USA nr 6180154 Natural colorant from potato extract) lub też wytwarzanie kosmetyków samochodowych (pat. USA nr 4702856, Organic car wash containing potato juice). W tym nurcie poszukiwaniomieści się także zastosowanie białek soku ziemniaczanego jako składników podłoży mikrobiologicznych. W patencie USA nr 4766070 (Fermentation process and substrate) frakcję białkową soku ziemniaka proponuje się zastosować jako źródło węgla dla mikroorganizmów w przemysłowych procesach produkcji metabolitów takich jak enzymy czy antybiotyki – bacytracyna.

Fizjologiczne znaczenie składników soku wykracza jednak poza dostarczenie organizmowi atrakcyjnego zestawu aminokwasów. Fakt ten wykorzystano w patencie USA nr 7378117 (Method for the production of potato juice by means of food technology), w którym opisano metodę otrzymywania produktu na bazie soku z ziemniaka. Spożycie tego preparatu przyczynia się do poprawy bilansu kwasowo-zasadowego organizmu. Produkt zawiera głównie skoncentrowane substancje mineralne pochodzące z soku ziemniaka, w konsekwencji czego stosunek substancji zasadowotwórczych do kwasotwórczych w tym produkcie wynosi co najmniej 1,5 (preferencyjnie 3,5). Proces produkcji obejmuje: rozdrobnienie komórek ziemniaka, usunięcie błonnika, skrobi jak również białek w drodze mikro- bądź ultrafiltracji, a następnie zatężenie elektrolitów w procesie elektrodializy, jak również ewentualnie suszenie produktu z zastosowaniem nośników silikonowych.

Epidemia chorób cywilizacyjnych generuje zapotrzebowanie na tzw. żywność funkcjonalną tj. żywność wykazującą korzystne oddziaływanie na organizm człowieka ponad efekt prozdrowotny. Jednym z problemów poruszanych przez współczesne nauki o żywieniu jest zachowanie odpowiedniej proporcji produktów kwaso- i zasadowczych w diecie człowieka [Gawęcki J. red. 2012. Żywność Człowieka. T.1. Podstawy nauki o żywieniu]. W patencie USA nr 7378117 opisano sposób otrzymywania preparatu spożywczego na bazie soku ziemniaczanego charakteryzującego się przewagą zawartości substancji zasadowczych do kwasowych (w stosunku nie mniejszym niż 1,5). Sposób polega w pierwszym etapie na wyciśnięciu soku z bulw ziemniaka, odseparowaniu cząstek nierozpuszczalnych w drodze mikrofiltracji/ultrafiltracji oraz poddaniu filtratu procesowi elektrodializy w celu otrzymania właściwego produktu, o odpowiedniej proporcji składników kwasowych do zasadowczych. Tak otrzymany produkt utrwala się poprzez odwodnienie różnymi metodami.

Niezadowolające efekty prozdrowotne i prodietyczne znanych preparatów wynikające głównie z zastosowanych metod produkcji sprawiły, że celem było opracowanie preparatu oraz sposobu jego otrzymywania, jaki prowadziłby do otrzymywania preparatu zawierającego nie tylko pełnowartościowe białko, ale również substancje bioaktywne, wspomagające leczenie chorób przewodu pokarmowego związanych z nieprawidłowym rozrostem komórek.

Udało się to osiągnąć opracowując niniejszy wynalazek. Uzyskany preparat ze względu na bogaty skład stanowi nie tylko cenne źródło aminokwasów niezbędnych, ale również soli mineralnych, szczególnie żelaza. Przeznaczony jest do stosowania, jako komponent różnych produktów spożywczych, szczególnie żywności funkcjonalnej.

Sposób otrzymywania prozdrowotnego preparatu białkowego polega na tym, że zateżę się i wzbogaca świeżo wyciśnięty sok ziemniaczany we frakcję białkową a następnie utrwala się tak otrzymany produkt poprzez odwodnienie. Proces zateżęcia prowadzi się w temperaturze poniżej 35°C (korzystnie poniżej 25°C). Zateżęcie prowadzi się w drodze metody wybranej spośród: kriokoncentracji, wirowania, mikrofiltracji, ultrafiltracji, nanofiltracji bądź odwróconej osmozy. Produkty zateżęcia i separacji membranowej miesza się ze sobą w celu otrzymania materiału zawierającego, co najmniej 10–40% suchej masy (korzystnie 15–35%) a w niej, co najmniej 55–80% białka (korzystnie 60–70%). Materiał ten poddaje się w drodze utrwaleniu w drodze liofilizacji lub suszenia rozpyłowego.

Nieoczekiwanie okazało się, że preparat otrzymany sposobem według wynalazku stanowi źródło zarówno pełnowartościowego białka jak i jest niezwykle bogatym źródłem żelaza. Zastosowanie sposobu wg wynalazku skutkuje wzbogaceniem składu aminokwasowego o aminokwasy siarkowe, które to aminokwasy stanowią o niepełnowartościowości natywnego białka ziemniaczanego. Tym samym preparat wg wynalazku stanowi unikatową kompozycję pełnowartościowego białka i dobrze przyswajalnego żelaza. Może być zatem rekomendowany jako niezastąpiony komponent diety wegan. Ponadto aktywność biologiczna preparatu wg wynalazku, który jest cytotoksyczny w stosunku do komórek nowotworowych przewodu pokarmowego, pozwala na zarekomendowanie go wszystkim konsumentom borykającym się z nieprawidłowym funkcjonowaniem przewodu pokarmowego. Utrwalony może być stosowany do przygotowania potraw, produkcji żywności funkcjonalnej, wygodnej a jego działanie prozdrowotne nie zanika w wyniku obróbki termicznej.

Skład preparatu wg wynalazku może być precyzyjnie adjustowany dzięki zastosowaniu procesu mieszania komponentów zateżęzonych różnymi metodami. Stąd możliwe jest otrzymanie preparatu o zaprojektowanej zawartości frakcji białkowej oraz zaprojektowanej zawartości składników mineralnych. Sposób wg wynalazku umożliwia produkcję preparatów o różnym składzie [mieszczącym się w granicach co najmniej 10–40% suchej masy (korzystnie 15–35%) a w niej, co najmniej 55–80% białka (korzystnie 60–70%)] wg zapotrzebowania klientów stosujących preparat wg wynalazku do wytwarzania różnych produktów spożywczych. Umożliwia to zaspokojenie różnorodnych wymogów dotyczących właściwości organoleptycznych i wartości odżywczej preparatu wg wynalazku.

Sposób wg wynalazku ilustrują następujące przykłady.

P r z y k ł a d 1

Kriokoncentracja świeżego soku

Świeżo wyciśnięty sok ziemniaczany ochłodzono się do temperatury 0°C w zbiorniku zasilającym kriokoncentrator. Właściwy proces kriokoncentracji prowadzono w kolumnie zbudowanej z cylindra wyposażonego w ruchomy tłok zakończony sitem, na powierzchni którego następuje separacja lodu od koncentratu. Proces prowadzono przy zastosowaniu temperatury produktu w fazie zrzutu -3,8°C i przewodności wody usuwanej z układu 29 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Otrzymano produkt o zawartości 30% suchej masy, a w niej 40% białka i 16% składników mineralnych. Aktywność przeciwutleniająca oznaczona metodą z kationorodnikiem ABTS wyniosła $0,18 \pm 0,02$ TEAC [mmol/g s.m.], a zawartość związków polifenolowych ogółem oznaczona metodą z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu $27,5 \pm 1,1$ CAE [mg/g s.m.]. Skład aminokwasowy frakcji białkowej obejmuje: 2,3% histydyny, 5,1% izoleucyny, 9,2% leucyny, 9,4% lizyny, 1,9% metioniny, 4,5% fenyloalaniny, 6,1% treoniny, 1,8% tryptofanu, 5,2% waliny, 5,0% argininy, 1,1% cysteiny, 5,1% glicyny, 6,9% proliny, 5,3% tyrozyny, 4,3% alaniny, 11,6% kwasu asparaginowego, 9,6% kwasu glutaminowego i 5,5% seryny.

Przykład 2

Mikrofiltracja

Świeżo wyciśnięty sok z ziemniaka poddano procesowi zatężania na membranie mikrofiltracyjnej o punkcie odcięcia 0,14 m. Proces prowadzono z zawrotem retentatu tak długo, aż uzyskano produkt zawierający 22% suchej masy, a w niej 66% białka i 8% składników mineralnych.

Przykład 3

Ultrafiltracja

Świeżo wyciśnięty sok z ziemniaka poddano procesowi zatężania w membranowym module ultrafiltracyjnym składającym się z zbiornika wykonanego ze stali kwasoodpornej, pompy krzywkowej i ceramicznej membrany ultrafiltracyjnej o punkcie odcięcia 1 kDa. Proces prowadzono z zawrotem retentatu. Otrzymano produkt zawierający 20% suchej masy, a w niej 65% białka i 8% składników mineralnych.

Przykład 4

Otrzymywanie gotowego produktu w drodze liofilizacji

2 kg produktu kriokoncentracji otrzymanego wg przykładu 1 miesza się z 8 kg produktu mikrofiltracji otrzymanego wg przykładu 2. Otrzymuje się 10 kg produktu zawierającego 24% suchej masy a w niej 61% białka i 10% składników mineralnych. Tak otrzymany produkt poddaje się procesowi liofilizacji z zastosowaniem następujących parametrów: ciśnienie 0,1 mbar, suszenie właściwe w temperaturze -20°C w czasie 24 godzin, dosuszanie w temperaturze 23°C w czasie 4 h.

Przykład 5

Otrzymywanie gotowego produktu w drodze suszenia rozpyłowego

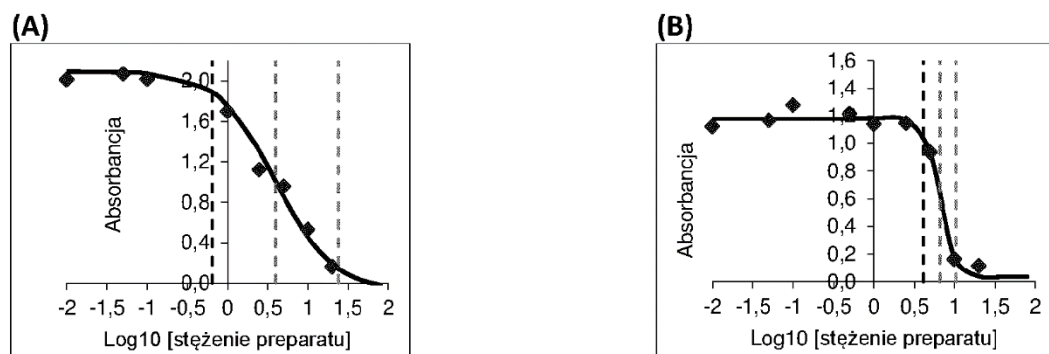
Produkt otrzymany wg przykładu 3 suszy się za pomocą suszarni rozpyłowej wyposażonej w dysk, przy zastosowaniu temperatur powietrza: 170°C na wlocie do komory suszarniczej, 95°C . Otrzymuje się produkt zawierający 95% suchej masy a w niej 66% białka i 7,9% składników mineralnych. Skład aminokwasowy frakcji białkowej obejmuje: 1,9% histydyny, 4,3% izoleucyny, 9,1% leucyny, 8,3% lizyny, 2,1% metioniny, 5,6% fenyloalaniny, 6,2% treoniny, 1,1% tryptofanu, 4,0% waliny, 4,7% argininy, 1,7% cysteiny, 5,2% glicyny, 5,0% proliny, 4,9% tyrozyny, 5,1% alaniny, 12,7% kwasu asparaginowego, 11,2% kwasu glutaminowego i 5,1% seryny. Produkt stanowi bogate źródło: potasu – 4,3/100 g (co stanowi 91% RDI), magnezu – 241 mg/100 g (60% RDI), wapnia – 118 mg/100 g (91% RDI), **żelaza – 30,5 mg/100 g (169% RDI)**, cynku – 6,04 mg/100 g (55% RDI) oraz manganu – 3,79 mg/100 g (172% RDI).

Przykład 6

Aktywność biologiczna gotowego produktu

Produkt utrwalony w drodze suszenia rozpyłowego (przykład 5) poddano analizie cytotoksyczności z zastosowaniem ludzkich komórek nabłonka okrężnicy pochodzących z tkanki nowotworowej (linia HT-29) i prawidłowej (linia CCD 841 CoN). Hodowle komórek prowadzono w pożywce DMEM z dodatkiem mieszaniny niezbędnych aminokwasów (1%) oraz płodowej surowicy bydlęcej (10%) w temperaturze 37°C , w atmosferze zawierającej 5% CO_2 i 95% powietrza. Hodowle zakładano przy początkowej gęstości komórek wnoszącej $1,5 \cdot 10^4$ komórek/ cm^2 . Po 24 godzinach hodowli komórki ekspozowano na preparat w stężeniach od 0,01 do 20 mg/ml. Wpływ preparatu na proliferację, żywotność i aktywność metaboliczną komórek oceniano po 72 godzinach ekspozycji za pomocą testu cytotoksyczności MTT, opartego na oznaczeniu aktywności komórkowych dehydrogenaz mitochondrialnych. Na podstawie wyników badań wykreślono krzywe odpowiedzi komórek na dawki preparatu oraz wyznaczono pierwszą dawkę cytotoksyczną IC_{10} i właściwą dawkę cytotoksyczną IC_{50} , które określają stężenie preparatu powodujące odpowiednio 10% i 50% inhibicję proliferacji i aktywności metabolicznej komórek.

Wyniki wskazują, że analizowany preparat charakteryzuje się znacząco wyższą aktywnością cytotoksyczną w stosunku do komórek nowotworowych niż do komórek prawidłowych, co ilustrują dane przedstawione na rys. 1 i w tabeli 1. Hamowanie wzrostu nowotworowych komórek okrężnicy obserwowano już przy zastosowaniu preparatu w stężeniu $0,80 \pm 0,14$ mg/ml (IC_{10}). Natomiast w hodowli komórek prawidłowych ten sam efekt cytotoksyczny wywołany był po wprowadzeniu preparatu w dawce prawie 6-krotnie większej ($4,71 \pm 0,57$ mg/ml). Niska pierwsza dawka cytotoksyczna preparatu (IC_{10}) wyznaczona dla komórek HT-29 wskazuje na jego potencjalne działanie przeciwnowotworowe i możliwość hamowania wzrostu nowotworu w warunkach fizjologicznych, bez wpływu na proliferację i żywotność komórek prawidłowych śluzówki jelita grubego. Różnice w poziomie cytotoksyczności preparatu dla komórek pochodzących z tkanki nowotworowej i prawidłowej potwierdzają również wyznaczone dawki IC_{50} (Tab. 1).



Rys. 1. Krzywe odpowiedzi na dawkę wyznaczone dla badanego preparatu wprowadzonego do hodowli komórek nowotworowych HT-29 (A) i prawidłowych CCD 841 CoN (B) w stężeniach 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 5; 10 i 20 mg/ml. Cytotoksyczność oznaczono kolorymetrycznym testem MTT.

T a b e l a 1. Dawki cytotoksyczne preparatu suszonego rozpyłowo wyznaczone dla prawidłowych (CCD 841 CoN) i nowotworowych (HT-29) komórek okrężnicy. Statystycznie znaczne różnice pomiędzy dawkami IC_{10} i IC_{50} dla komórek HT-29 i CCD 841 CoN na poziomie $***p < 0,001$.

Dawka cytotoksyczna	HT-29	CCD 841 CoN
IC_{10} (mg/ml)	$0,80 \pm 0,14$	$4,71 \pm 0,57$
IC_{50} (mg/ml)	$3,89 \pm 0,21$	$6,50 \pm 0,20$

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania preparatu spożywczego wspomagające leczenie chorób przewodu pokarmowego związanych z nieprawidłowym wzrostem komórek zawierającego pełnowartościowe białko roślinne, **znamienny tym**, że świeżo wyciśnięty sok z ziemniaka zatęża się w temperaturze poniżej $35^{\circ}C$ i wzbogaca we frakcję białkową tak, że miesza się ze sobą produkty zatężania i separacji membranowej do otrzymania materiału zawierającego co najmniej 10–40% suchej masy a w niej co najmniej 55–80% białka a materiał ten poddaje się utrwaleniu w drodze liofilizacji lub suszenia rozpyłowego, proces zatężania prowadzi się w temperaturze poniżej $25^{\circ}C$ sposobem wybranym spośród kriokoncentracji, wirowania, mikrofiltracji, ultrafiltracji, nanofiltracji bądź odwróconej osmozy.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że produkty zatężania i separacji membranowej miesza się ze sobą do otrzymania materiału zawierającego co najmniej 15–35% suchej masy a w niej co najmniej 60–70% białka a materiał ten poddaje się utrwaleniu w drodze liofilizacji lub suszenia rozpyłowego.