

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10)

PL 245267 B1

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **438554**

(22) Data zgłoszenia: **2021.07.22**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2023.01.23 BUP 04/2023**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2024.06.17 WUP 25/2024**

(51) MKP:

A23L 3/46 (2006.01)

A23L 21/20 (2016.01)

A23L 29/206 (2016.01)

A61K 9/52 (2006.01)

A61K 35/644 (2015.01)

A61K 31/715 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

POLITECHNIKA ŁÓDZKA, Łódź, PL

(72) Twórca(-y) wynalazku:

JUSTYNA ROSICKA-KACZMAREK, Zgierz, PL

GABRIELA KOWALSKA, Łódź, PL

TOMASZ OLEJNIK, Łódź, PL

KAROLINA MIŚKIEWICZ, Stryków, PL

JOANNA ORACZ, Kamieńsk, PL

MAGDALENA WIKTORSKA, Łódź, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Anna Westrych, Łódź, PL

(54) Tytuł:

Sposób wytwarzania preparatu mleczka pszczelego w postaci enkapsulatu o zwiększonej biostabilności i biodostępności

PL 245267 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania preparatu mleczka pszczelego w postaci enkapsulatu, o zwiększonej biostabilności i biodostępności przy wykorzystaniu procesu suszenia rozpyłowego.

W międzynarodowym zgłoszeniu patentowym WO2020117152A2 opisane zostało rozwiązanie dotyczące enkapsulacji mleczka pszczelego na drodze współstrącania z roztworu. Sposób obejmuje etapy przygotowania mieszaniny zawierającej mleczko pszczele i żelatynę oraz zastosowanie kąpieli hydrofobowej w ramach fazy ciekłej, aby umożliwić żelatynie utworzenie otoczki opłaszczającej wokół mleczka pszczelego w wyniku jej żelowania.

Z chińskiego zgłoszenia patentowego CN201510008006 znany jest sposób wytwarzania mleczka pszczelego w formie miękkich kapsułek.

W chińskim zgłoszeniu patentowym CN200410024583 opisano sposób utrwalenia mleczka pszczelego przez liofilizację z udziałem stabilizatorów trwałości.

Z opisu zgłoszenia patentowego P. 433321 znany jest sposób wytwarzania mikrokapsułkowego preparatu miodu pszczelego do zastosowań biomedycznych na drodze enkapsulacji przy wykorzystaniu metody suszenia rozpyłowego z zastosowaniem materiału opłaszczającego, który charakteryzuje się tym, że jako materiał opłaszczający stosuje się heteropolisacharydy z otrąb żyta. Jednakże, ze względu na stan fizyczny i wynikające z niego właściwości, zarówno miodu, jak i mleczka, nie należy tych dwóch produktów traktować, jako tożsamy. Tym samym nie jest możliwe otrzymanie enkapsulatu mleczka pszczelego według sposobu przedstawionego w opisie zgłoszenia patentowego P. 433321. Różnica we właściwościach fizykochemicznych miodu i mleczka pszczelego wynika m.in. z zawartości wody, węglowodanów, białka, lipidów oraz właściwości reologicznych tych dwóch produktów pszczelich. Wymienione czynniki determinują tym samym konieczność doboru właściwej proporcji produktu pszczelego do materiału opłaszczającego, co jest niezbędnym warunkiem dla otrzymania w efekcie końcowym enkapsulatu o zwiększonej biostabilności i biodostępności.

Mleczko pszczele ma wiele właściwości prozdrowotnych, m.in. wpływa na rozszerzenie naczyń krwionośnych, obniża ciśnienie krwi, ma działanie przeciwnowotworowe, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwalergiczne, a także przeciwdziała zmęczeniu i przyspiesza gojenie się ran.

Mleczko pszczele to jedyny produkt naturalny zawierający ponad 150 substancji czynnych. Zawiera ono mnóstwo różnych substancji niezbędnych w naszej diecie. Skład mleczka pszczelego jest bogaty i zróżnicowany, jest bardzo korzystny dla naszego zdrowia. Mleczko pszczele składa się w 66–67% z wody, gdzie miód zawiera jej 18–20%. Jednym z najważniejszych składników jest białko nieoczyszczone, którego jest aż 12–18%, gdzie miód zawiera od 2–4%. W skład mleczka pszczelego wchodzi również kwasy tłuszczowe (w tym charakterystyczny tylko dla mleczka pszczelego kwas 10 HDA – 10 hydroksydekanowy, występujący wyłącznie w naturalnym mleczku pszczelim, o silnym działaniu przeciwdrobnoustrojowym i antynowotworowym. Ponadto w składzie mleczka pszczelego znajdują się śladowe ilości glikogenu, albuminy i globuliny, białka złożone (w tym glikoproteiny, lipoproteiny, nukleoproteiny), wszystkie aminokwasy, neurohormon acetylocholina (jedyne naturalne źródło tego składnika, działająca, jako neuroprzekaźnik), hormony płciowe (estradiol, progesteron i testosteron), fitohormony oraz enzymy, makro- i mikropierwiastki (sód, potas, wapń, magnez, cynk, żelazo, kobalt), witaminy z grupy B, kwas pantotenowy, kwas nikotynowy oraz inozytol, ATP, ADP i AMP. Tak bogaty skład chemiczny generuje potrzebę utrwalenia mleczka pszczelego, przede wszystkim z uwagi na wysoką labilność jego komponentów. Składniki mleczka pszczelego przechowywanego w temperaturze pokojowej ulegają degradacji w ciągu 48 h. Determinuje to konieczność poszukiwania skutecznej metody utrwalania mleczka pszczelego w kierunku poprawy jego stabilności przechowalniczej przy zachowaniu składu maksymalnie zbliżonego do produktu świeżego (niepoddanego procesowi utrwalania).

W przemyśle spożywczym najpowszechniej wykorzystywaną metodą kapsułkowania jest suszenie rozpyłowe. Jest to związane ze stosunkowo niskim kosztem procesu, dużą dostępnością sprzętu, a także z małym obciążeniem cieplnym materiału, co umożliwia stosowanie go do substancji wrażliwych na działanie wysokich temperatur. Zastosowanie techniki enkapsulacji z wykorzystaniem metody suszenia rozpyłowego daje możliwość otrzymania enkapsulatu mleczka pszczelego w postaci sferycznych mikrokapsułek, co nie jest możliwe przy zastosowaniu metody liofilizacji. Forma sferycznych kapsułek mleczka pszczelego pozwala na jego dotarcie do okrężnicy w stanie praktycznie niezmiennym w stosunku do formy wyjściowej i kontrolowane uwalnianie jego składników bioaktywnych do krwioobiegu.

Celem wynalazku jest opracowanie sposobu wytwarzania preparatu mleczka pszczelego w postaci enkapsulatu o zwiększonej biostabilności i biodostępności.

Sposób wytwarzania preparatu mleczka pszczelego w postaci enkapsulatu o zwiększonej biostabilności i biodostępności przy wykorzystaniu procesu suszenia rozpyłowego z zastosowaniem materiału opłaszczającego według wynalazku charakteryzuje się tym, że jako materiał opłaszczający stosuje się rozpuszczalne w wodzie bioaktywne heteropolisacharydy z otrąb żyta, przy czym stosunek części wagowych mleczka pszczelego do części wagowych materiału opłaszczającego wynosi co najwyżej 4:1.

Korzystnie suszeniu rozpyłowemu poddaje się roztwór mleczka wraz z materiałem opłaszczającym w postaci heteropolisacharydów z otrąb żyta, o składzie ilościowym 20,00–50,00 części wagowych mleczka, 2,00–5,00 części wagowych materiału opłaszczającego na 250 części wagowych wody.

Korzystnie proces suszenia rozpyłowego prowadzi się w komorze suszarni rozpyłowej, przez którą przepływa gorący czynnik suszący w postaci powietrza o temperaturze wlotowej wynoszącej 100–140°C.

Korzystnie temperatura powietrza wylotowego wynosi od 50 do 85°C.

Zastosowanie w sposobie według wynalazku materiału opłaszczającego w postaci rozpuszczalnych w wodzie bioaktywnych heteropolisacharydów z otrąb żyta w czasie procesu rozpylania pozwala na uzyskanie dużej powierzchni suszącej dla kapsułkowanego materiału, co ułatwia wymianę ciepła z ogrzanego gazu suszącego do rozpylonych cząsteczek cieczy. W ten sposób rozpuszczalnik odparowuje w bardzo krótkim czasie, średnio 1–20 sekund, a suszone cząsteczki mleczka, ze względu na intensywne przenoszenie ciepła i masy oraz utratę wilgoci, uzyskują maksymalnie taką samą temperaturę, jaką osiąga gaz suszący na wylocie suszarni (temperatura 50–85°C), która jednocześnie zabezpiecza składniki bioaktywne mleczka przed degradacją.

Enkapsulat mleczka pszczelego otrzymany sposobem według wynalazku znajduje zastosowanie jako suplement diety o ukierunkowanym, kontrolowanym uwalnianiu w jelicie o dwu- do trzykrotnie zwiększonej biodostępności.

Zastosowanie techniki enkapsulacji z użyciem nośników w postaci rozpuszczalnych w wodzie bioaktywnych heteropolisacharydów z otrąb żyta pozwala na zachowanie, a nawet zwiększenie aktywności biologicznej składników prozdrowotnych mleczka. Heteropolisacharydy otrzymane z żyta, a w szczególności ich frakcja arabinoksylianów charakteryzuje się właściwościami przeciwnowotworowymi, prebiotycznymi oraz wysokim potencjałem antyoksydacyjnym. Właściwości te wynikają z obecności, w strukturze heteropolisacharydów izolowanych z otrąb żyta, termostabilnych (<140°C) kwasów polifenolowych tj. ferulowego i synapowego. Ponadto ten rodzaj materiału opłaszczającego może tworzyć kowalencyjne żele na skutek sieciowania, w wyniku dimeryzacji lub trimeryzacji cząsteczek kwasu ferulowego, sąsiadujących łańcuchów heteropolisacharydowych. Najczęściej do tej pory wykorzystywana w suszeniu rozpyłowym, jako nośnik maltodekstryna nie stanowi wartości dodanej pod kątem potencjału bioaktywnego produktu finalnego, jakim jest suszone mleczko pszczele. Natomiast zastosowanie heteropolisacharydów z otrąb żyta o właściwościach bioaktywnych, stanowi naturalną alternatywę dla nośników polisacharydowych typu maltodekstryny lub gumy arabskiej. Zastosowanie tego typu naturalnego nośnika pozwala na istotne zwiększenie zarówno biostabilności, jak i potencjału bioaktywnego finalnego preparatu w stosunku do surowego, naturalnego mleczka pszczelego oraz na kontrolowane, ukierunkowane uwalnianie substancji aktywnych z utrwalonego preparatu w przewodzie pokarmowym. Tym samym heteropolisacharydy z otrąb żyta stanowią istotną wartość dodaną enkapsulatu mleczka pszczelego.

Sposób otrzymania enkapsulatu mleczka pszczelego o zwiększonej biostabilności i biodostępności metodą suszenia rozpyłowego według wynalazku pozwala na zachowanie cech mleczka w jak największym stopniu zbliżonych do produktu nieutrwalonego, przy pełnym zachowaniu jego składników odżywczych i korzystnych substancji bioaktywnych, a nawet siedmiokrotnego zwiększenia jego bioaktywności poprzez zastosowanie nośnika, tj. heteropolisacharydów z otrąb żyta. Sposób według wynalazku ilustrują poniższe przykłady.

Przykład 1

W zlewce o pojemności 600 mL przygotowano roztwór kapsułkowany o składzie ilościowym: mleczko pszczele – 50,00 g, heteropolisacharydy z otrąb żyta – 2,00 g, woda destylowana – 250 g. Składniki te dokładnie odważono i mieszano przez 16 h. Gotowy roztwór poddawano suszeniu rozpyłowemu przy użyciu laboratoryjnej suszarki rozpyłowej Büchi B-290. Temperaturę powietrza wlotowego ustawiono na 140°C, aspirator 100%, wydajność pompy na 14% uzyskując przepływ roztworu wynoszący 5 mL/min oraz temperaturę powietrza wylotowego wynoszącą 80°C. Otrzymany drobnoziarnisty

proszek charakteryzował się bladożółtą jednolitą barwą. Waga otrzymanego preparatu po zakończonym procesie suszenia wynosiła 13,21 g. Aktywność antyoksydacyjna preparatu wyrażona jako wartość IC_{50} wynosiła 2,96. Aktywność wody $a_w=0,479$. Biodostępność związków bioaktywnych enkapsulatu oznaczono na poziomie 12,01 mmol TE/100 g.

Biostabilność preparatów została wyrażona jako aktywność wody a_w . Przyjmuje się, że produkty, dla których oznaczono $a_w<0,6$ wykazują stabilność mikrobiologiczną. Nieprzetworzone mleczko pszczele (przyjęty wzorzec) charakteryzuje się wartością $a_w=0,837$.

Biodostępność związków bioaktywnych enkapsulatów mleczka pszczelego oceniono poprzez oznaczenie ilości związków fenolowych, podczas procesu symulowanego trawienia, wyrażonych jako mmol ekwiwalentów troloxu (TE) w 100 g próby uwolnionych na etapie trawienia w jelicie cienkim. Nieprzetworzone mleczko pszczele zawiera 5,48 mmol TE/100 g.

Wartość IC_{50} (ang. half maximal inhibitory concentration) oznaczono z równania regresji liniowej, odnosząc stopień wygaszania wolnego kationorodnika ABTS⁺ do zawartości związków polifenolowych w preparacie. Wartość IC_{50} określa stężenie przeciwutleniacza powodujące spadek początkowego stężenia rodnika o 50%. Im wyższa wartość IC_{50} w stosunku do przyjętego wzorca, tym mniej efektywny jest dany przeciwutleniacz. Nieprzetworzone mleczko pszczele charakteryzuje się wartością IC_{50} równą 22,82.

Przykład 2

W zlewce o pojemności 600 mL przygotowano roztwór kapsułkowany o składzie ilościowym: mleczko pszczele – 50,00 g, heteropolisacharydy z otręb żyta – 4,00 g, woda destylowana – 250 g. Składniki te dokładnie odważono i mieszano przez 16 h. Gotowy roztwór poddawano suszeniu rozpyłowemu przy użyciu laboratoryjnej suszarki rozpyłowej Büchi B-290. Temperaturę powietrza wlotowego ustawiono na 100°C, aspirator 100%, wydajność pompy na 14% uzyskując przepływ roztworu wynoszący 3 mL/min oraz temperaturę powietrza wylotowego wynoszącą 78°C. Otrzymany drobnoziarnisty proszek charakteryzował się bladożółtą jednolitą barwą. Waga otrzymanego preparatu po zakończonym procesie suszenia wynosiła 11,03 g. Aktywność antyoksydacyjna preparatu wyrażona jako wartość IC_{50} wynosiła 5,01. Wartość $a_w=0,475$. Biodostępność enkapsulatu wyrażona jako mmol TE/100 g została oznaczona na poziomie 10,96.

Przykład 3

W zlewce o pojemności 600 mL przygotowano roztwór kapsułkowany o składzie ilościowym: mleczko pszczele – 50,00 g, heteropolisacharydy z otręb żyta – 5,00 g, woda destylowana – 250 g. Składniki te dokładnie odważono i wymieszano. Gotowy roztwór poddawano suszeniu rozpyłowemu przy użyciu laboratoryjnej suszarki rozpyłowej Büchi B-290. Temperaturę powietrza wlotowego ustawiono na 120°C, aspirator 100%, wydajność pompy na 14% uzyskując przepływ roztworu wynoszący 3 mL/min oraz temperaturę powietrza wylotowego wynoszącą 85°C. Otrzymany drobnoziarnisty proszek charakteryzował się bladożółtą jednolitą barwą. Waga otrzymanego preparatu po zakończonym procesie suszenia wynosiła 13,36 g. Aktywność antyoksydacyjna preparatu wyrażona jako wartość IC_{50} wynosiła 8,63. Wartość $a_w=0,402$. Biodostępność enkapsulatu wyrażona jako mmol TE/100 g została oznaczona na poziomie 9,61.

Przykład 4

W zlewce o pojemności 600 mL przygotowano roztwór kapsułkowany o składzie ilościowym: mleczko pszczele – 20,00 g, frakcja heteropolisacharydów z otręb żyta – 2,00 g, woda destylowana – 250 g. Składniki te dokładnie odważono i mieszano przez 16 h. Gotowy roztwór poddawano suszeniu rozpyłowemu przy użyciu laboratoryjnej suszarki rozpyłowej Büchi B-290. Temperaturę powietrza wlotowego ustawiono na 113°C, aspirator 100%, wydajność pompy na 14% uzyskując przepływ roztworu wynoszący 3 mL/min oraz temperaturę powietrza wylotowego wynoszącą 50°C. Otrzymany drobnoziarnisty proszek charakteryzował się bladożółtą jednolitą barwą. Waga otrzymanego preparatu po zakończonym procesie suszenia wynosiła 5,98 g. Aktywność antyoksydacyjna preparatu wyrażona jako wartość IC_{50} wynosiła 6,78. Wartość $a_w=0,398$. Biodostępność enkapsulatu wyrażona jako mmol TE/100 g została oznaczona na poziomie 19,84.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania preparatu mleczka pszczelego w postaci enkapsulatu o zwiększonej biostabilności i biodostępności przy wykorzystaniu procesu suszenia rozpyłowego z zastosowaniem materiału opłaszczającego, **znamienny tym**, że jako materiał opłaszczający stosuje się rozpuszczalne w wodzie bioaktywne heteropolisacharydy z otręb żyta, przy czym stosunek części wagowych mleczka pszczelego do części wagowych materiału opłaszczającego wynosi co najwyżej 4:1.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że suszeniu rozpyłowemu poddaje się roztwór mleczka wraz z materiałem opłaszczającym w postaci heteropolisacharydów z otręb żyta, o składzie ilościowym 20,00–50,00 części wagowych mleczka, 2,00–5,00 części wagowych materiału opłaszczającego na 250 części wagowych wody.
3. Sposób według zastrz. 1 albo 2, **znamienny tym**, że proces suszenia rozpyłowego prowadzi się w komorze suszarni rozpyłowej, przez którą przepływa gorący czynnik suszący w postaci powietrza o temperaturze wlotowej wynoszącej 100–140°C.
4. Sposób według dowolnego z zastrz. od 1 do 3, **znamienny tym**, że temperatura powietrza wylotowego wynosi od 50 do 85°C.