

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **233752**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **412353**

(51) Int.Cl.

A23K 20/147 (2016.01)

(22) Data zgłoszenia: **15.05.2015**

(54) **Sposób wytwarzania preparatu białkowego z krwi zwierzęcej**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
21.11.2016 BUP 24/16

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
29.11.2019 WUP 11/19

(73) Uprawniony z patentu:
**UNIwersytet przyrodniczy
w POZNANIU, Poznań, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:
PIOTR KONIECZNY, Poznań, PL

(74) Pełnomocnik:
recz. pat. Anna Rożkowicz

PL 233752 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania preparatu białkowego z krwi zwierzęcej mającego zastosowanie jako źródło białka w produkcji karm zwierzęcych.

Mimo wysokiej uciążliwości dla środowiska, krew zwierząt rzeźnych pod względem odżywczym, jest jedną z najcenniejszych tkanek zwierzęcych, której 80% stanowi woda, ale pozostałe 20% to składniki organiczne i nieorganiczne. Związki organiczne to białka (albuminy, globuliny, fibrynogen, enzymy), hormony, glukoza i inne węglowodany, aminokwasy (zwłaszcza lizyna), lipidy, hem i produkty przemiany hemu itp. Związki nieorganiczne stanowią kationy sodu, wapnia, potasu, magnezu oraz aniony zawierające chlor, węgiel i fosfor. Powstająca w wyniku wirowania stabilizowanej krwi frakcja krwinek (gęstwa krwinek), po wysuszeniu, z uwagi na specyficzny zapach i ciemną barwę, w praktyce jest wykorzystywana niedostatecznie. Opracowanie sposobu przetwarzania krwinek w koncentrat białkowy mający zabarwienie jasno-żółte do brązowego otwiera możliwości wykorzystania części globinowej krwinek w produkcji karmy dla psów i kotów, z szerszym wykorzystaniem tego źródła białka w systemach karmy mokrej, do korygowania składu i funkcjonalności innych surowców ubocznych przemysłu mięsnego lub drobiarskiego, stosowanych jako składniki receptury, a w systemach karmy suchej do poprawy zbilansowania jej wartości odżywczej.

Technologiczna modyfikacja barwy gęstwy krwinek zmierzająca do rozszerzenia jej dyspozycyjności użytkowej polega na rozjaśnieniu barwy, bądź też częściowym lub całkowitym jej odbarwieniu. Ze stanu techniki znane są liczne, wariantowe rozwiązania dotyczące postępowania technologicznego.

Jak podaje Smirnitzkaja N.E. i in., w publikacji naukowej „Manufacture of a protein concentrate and its use during production of sausages and chops,” Vses. Nauchno-Issled. Inst. Myasn. Prom. 27, 71, 1973 r., rozjaśnienie barwy gęstwy krwinek można uzyskać przez mieszanie krwinek z mlekiem lub serwatką. Z kolei w publikacji naukowej Gorbatov V. M. „The utilization of blood and other slaughter by-products,” Proc. of the Eu. Meet. of Meat Research Work., No 22, 10.1–10.5, 1976 r., rozjaśnienie barwy gęstwy krwinek uzyskano poprzez emulgowanie krwinek z innymi białkami pochodzenia roślinnego oraz tłuszczem. Do roli barwnika gęstwy krwinek można przystosować poprzez peklowanie, jak przedstawiono to w Pietrzyk M., Orłowska K., „Zastosowanie peklowanej krwi do barwienia wędlin,” Roczn. Inst. Przem. Mięsn. 2, 81–87, 1971 r.

Odbarwianie frakcji krwinek polega na wykorzystaniu różnych metod redukujących charakterystyczny ciemny kolor hemoglobiny. Do rozdzielania hemu i globiny można użyć rozpuszczalników organicznych jak metanol lub etanol, a także aceton, skuteczny zwłaszcza w środowisku kwaśnym. Technologiczne wykorzystanie może też obejmować barwnik wyizolowany w ten sposób z gęstwy krwinek. W metodach polegających na adsorpcji hemu znalazła zastosowanie karboksymetyloceluloza, jej sól sodowa, a także alginian sodowy, jak przedstawiono w publikacji naukowej Hayakawa S. i in., „Some Functional Properties under Heating of the Globin Prepared by Carboxymethyl Cellulose Procedure,” Journal of Food Science, 47, 5, 1415–1418, 1982 r.

Do skutecznego odbarwiania hemoglobiny można zastosować silne utleniacze jak ozon czy nadtlenek wodoru (patrz Wismer- Pedersen J., „Vollausnutzung von Schlachttierblut bei der Herstellung von Fleischprodukten: Die lebensmittelchemischen Eigenschaften der farblosen Bestandteile des Blutes,” Fleischwirtschaft, 60, 652–657, 1980 r.). Po wstępnym ogrzaniu do temperatury 70°C i wychłodzeniu, zdenaturowaną hemoglobinę miesza się z roztworem nadtlenku wodoru wykorzystując jego silne właściwości utleniające. Z uwagi na nieodwracalną destrukcję hemu, wykorzystanie krwinek odbarwionych w ten sposób ogranicza się do otrzymywania koncentratu białek globinowych. Funkcjonalność i wartość odżywczą takiego preparatu determinują zarówno warunki wstępnej obróbki cieplnej, jak i ilość utleniacza zastosowanego do odbarwiania.

Przedmiotem patentu polskiego PL122961B1 jest sposób wytwarzania spożywczego preparatu białkowego z krwi zwierząt rzeźnych poprzez odbarwienie krwi za pomocą nadtlenku wodoru. W przytoczonym rozwiązaniu warstwę wysuszonej krwi pokrywa się warstwą nadtlenku wodoru w ilości około 50% wag. w stosunku do masy surowca, po czym następuje etap intensywnego mieszania reagentów, suszenia w temperaturze poniżej 80°C i rozdrobnienia.

W patencie polskim PL185591B1 ujawniono sposób wytwarzania białka globinowego z krwi i hemoglobiny, obejmujący etap obróbki materiału wyjściowego w warunkach alkalicznych, w którym doprowadza się pH do wartości powyżej 12 przez co najmniej 15 minut, utrzymując temperaturę poniżej 50°C, i etap obróbki otrzymanego produktu w warunkach utleniających (z utleniaczem w postaci

nadtlenku wodoru), w którym pH utrzymuje się poniżej 12, przez co najmniej 30 minut, a temperaturę utrzymuje się poniżej 50°C.

Z patentu europejskiego EP0460219B1 znany jest sposób otrzymywania rozpuszczalnej w wodzie, odbarwionej i pozbawionej zapachu hemoglobiny, która wykorzystywana jest jako surowiec w produkcji żywności. Proces otrzymywania hemoglobiny o wymienionych wyżej parametrach obejmuje przemywanie hemoglobiny wodą, dyspergowanie w wodzie w warunkach alkalicznych, utrzymując pH powyżej 9, a następnie poddanie działaniu nadtlenku wodoru. Istotne jest utrzymanie koncentracji nadtlenku wodoru w przedziale od 0,2 do 10% w/w przy ciągłym ogrzewaniu do temperatury nie niższej niż 30°C, korzystnie z przedziału 60–90°C.

W europejskim patencie EP0217849B1 ujawniono sposób wytwarzania odbarwionego produktu zawierającego elementy morfotyczne krwi, w celu produkcji dodatku do żywności lub samej żywności. Przedstawiony sposób polega na dodaniu środka przeciwzakrzepowego (antykoagulantu) do zawiesiny lub roztworu zawierającego elementy morfotyczne krwi, obniżeniu pH zawiesiny lub roztworu do wartości z zakresu od 1 do 2, traktowaniu mieszaniny środkiem utleniającym (H₂O₂ w obecności pochodnej wodorowęglowej z grupą dienolową). Jeżeli zaistnieje taka konieczność roztwór jest następnie dializowany w celu eliminacji produktów ubocznych, zatężony aż do uzyskania zawartości suchej masy z zakresu od 10 do 40% w/v, przed lub po podwyższeniu pH roztworu do wartości z zakresu od 7 do 7,5. Końcowy produkt może zostać następnie zamrożony.

Problemem technicznym rozwiązywanym przez niniejszy wynalazek jest zaproponowanie udoskonalonego sposobu wytwarzania odbarwionego preparatu białkowego z krwi zwierzęcej, pozwalającego na otrzymanie preparatu o wysokim stopniu odbarwienia i jednocześnie wysoko wartościowego, bezpiecznego dla zdrowia składnika karm zwierzęcych. Celem wynalazku jest dostarczenie sposobu umożliwiającego skuteczną zmianę zabarwienia barwy gąszczu krwinek z palety barw od brązowej do jasnożółtej przy wykorzystaniu środków przyjaznych dla środowiska, eliminujących występowanie szkodliwych chemicznych pozostałości powstających w dotychczas stosowanych procesach. Celem wynalazku jest jednocześnie skrócenie czasu i liczby etapów procesu, jego energochłonności oraz zmniejszenie niekorzystnego pienienia preparatu. Wytworzony preparat białkowy będzie posiadał niewyczuwalny smak i zapach. Nieoczekiwane wspomniane problemy techniczne rozwiązał prezentowany wynalazek.

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania preparatu białkowego z gęstwy krwinek pozyskanych na drodze wirowania stabilizowanej krwi zwierzęcej, poprzez jej odbarwienie, obejmujący następujące etapy:

- a) gęstwą krwinek rozcieńcza się wodą w stosunku 1:7,
- b) do rozcieńczonej gęstwy krwinek dodaje się roztwór kwasu askorbinowego ciągle mieszając do uzyskania roztworu o wartości pH 3,0–3,5, zwłaszcza pH 3,5,
- c) do mieszaniny z etapu b) dodaje się preparat odbarwiający zawierający kwas nadmśrkowy, utrzymując ciągle mieszanie, przyczyni stężenie kwasu nadmśrkowego wynosi co najmniej 1%,
- d) odbarwione białka globinowe wytrąca się w postaci osadu w punkcie izoelektrycznym białka.

Korzystnie, zawartość kwasu askorbinowego w mieszaninie wynosi 3% w/v.

Korzystnie, ilość dodawanego w etapie (c) kwasu nadmśrkowego wynosi od 10 ml do 40 ml na 100 ml rozcieńczonych krwinek

Korzystnie, białka wytrąca się w pH 6,8 za pomocą 10% roztworu NaOH.

Korzystnie, do mieszaniny reagentów dodaje się symektonu w celu zahamowania pienienia.

Korzystnie, odbarwiony preparat białkowy z pkt (d) oddziela się poprzez wirowanie na wirówce separacyjnej.

Korzystnie, odwirowany odbarwiony preparat białkowy suszy się metodą liofilizacji.

Korzystnie, gęstwa krwinek pochodzi z krwi wieprzowej, wołowej, drobiowej lub ich mieszaniny.

Gęstwą krwinek rozcieńcza się wodą w stosunku 1:7 w celu wywołania zjawiska hemolizy co skutkuje pękaniem erytrocytów, miesza z kwasem askorbinowym w postaci sypkiego proszku (E300) w celu obniżenia odczynu pH roztworu do wartości poniżej 4,0 (korzystnie pH 3,0–3,5, zwłaszcza pH 3,5) i zahamowania aktywności katalazy, a następnie poddaje działaniu ściśle określonej dawki preparatu kwasu nadmśrkowego otrzymywanego komercyjnie jako mieszaniny stężonych roztworów nadtlenku wodoru i kwasu mśrkowego. Produkowany ze składników dozwolonych do stosowania w przemyśle spożywczym lub paszowym, kwas nadmśrkowy jest całkowicie przyjazny środowisku naturalnemu, ponieważ ulega rozkładowi z ostatecznym wydzieleniem dwutlenku węgla i wody.

Potencjał utleniający kwasu nadmanganowego jest porównywalny z odczynnikiem Fentona (2,70 eV), a znacznie wyższy niż w przypadku innych znanych utleniaczy jak ozon (2,07 eV), kwas peroksyoctowy (1,81 eV), dwutlenek chloru (1,57 eV), czy podchloryn sodu (1,36 eV). Zobjętnienie mieszaniny za pomocą 10% NaOH do wartości odczynu pH = 6,8 odpowiadającego punktowi izoelektrycznemu białek globulinowych skutkuje ich wytrąceniem z roztworu w postaci łatwo sedymentującego osadu. Surowcem do produkcji preparatu według wynalazku może być gęstwa krwinek pozyskana na drodze wirowania stabilizowanej krwi zwierzęcej (wieprzowej, wołowej lub drobiowej) w warunkach przemysłowych, następnie poddana rozcieńczeniu wodą w stosunku 1:7. Dzięki zastosowaniu kwasu askorbinowego jako czynnika hamującego działanie katalazy i niekorzystne pienienie, roztwór krwinek nie wymaga wstępnej obróbki cieplnej.

W celu zahamowania procesu pienienia mieszaniny reagentów możliwe jest wykorzystanie symetykonu – stabilnego powierzchniowo-czynnego polidymetylosiloksanu. Jest to związek wykazujący wyłącznie działanie powierzchniowe i nie wchodzi w reakcje chemiczne. Jest substancją farmakologicznie i fizjologicznie obojętną.

Proces z udziałem preparatu kwasu nadmanganowego jako utleniacza silniejszego od nadtlenu wodoru prowadzi do uzyskania efektu odbarwienia przy mniejszym zużyciu odczynnika (1 ml do 40 ml odczynnika na 100 ml gęstwy krwinek), tym samym eliminując szkodliwe pozostałości (jak H₂O₂) jest bezpieczniejszy dla zdrowia.

Zabarwienie końcowe preparatu można regulować wielkością dawki w stosunku do masy surowca. Otrzymany osad nadaje się do wykorzystania jako źródło białka w postaci na mokro lub po wysuszeniu wybraną metodą.

Sposób wytwarzania według wynalazku umożliwia uzyskanie preparatu białkowego z gęstwy krwi zwierzęcej, który pozbawiony jest smaku i zapachu oraz jest odbarwiony do barwy z palety od brązowej do jasnożółtej. W prezentowanym sposobie wykorzystuje się jedynie przyjazne środowiskowo odczynniki, które stosowane są w przemyśle spożywczym. Dzięki zastosowaniu kwasu askorbinowego jako czynnika hamującego działanie katalazy i niekorzystne pienienie, roztwór krwinek nie wymaga wstępnej obróbki cieplnej, przez co ograniczeniu ulega liczba procesów prowadzących do otrzymania gotowego preparatu, jak również zmniejsza się jego energochłonność. Natomiast użycie kwasu nadmanganowego w odpowiednich stężeniach pozwala na skuteczne odbarwienie gęstwy krwinek przy równoczesnym wyeliminowaniu szkodliwych dla zdrowia i środowiska produktów ubocznych powstających w alternatywnych, znanych procesach.

Przykład

100 ml gęstwy krwinek otrzymane w wyniku wirowania krwi wieprzowej, stabilizowanej dodatkiem antykoagulantu w warunkach przemysłowych, rozcieńczono wodą wodociągową w stosunku 1:7. Następnie, przy starannym mieszaniu, wprowadzono do roztworu kwas askorbinowy w postaci sypkiego proszku (E300), zapewniając jego 3% w/v zawartość w mieszaninie i obniżenie odczynu pH mieszaniny do wartości 4,0. W kolejnym etapie powoli, ciągle mieszając, dodawano preparat odbarwiający o stężeniu 1% kwasu nadmanganowego, przygotowany zgodnie z procedurą podaną przez producenta, z wymieszania dostępnych w handlu składników W1 (35% nadtlenek wodoru) oraz W2 (15% kwas manganowy). Ilość dodawanego odczynnika chemicznego można regulować, przy czym dawki w zakresie od 10 ml do 40 ml na 100 ml rozcieńczonych krwinek, zapewniają końcowe zabarwienie preparatu globulinowego od barwy brązowej do jasnożółtej. W celu wytrącenia odbarwionych białek globulinowych regulowano odczyn pH w kierunku obojętnym za pomocą 10% roztworu NaOH, w ilości uzależnionej od pojemności buforowej otrzymanej mieszaniny, jednak nie mniejszej niż zapewniającej końcowy odczyn pH na poziomie 6,8, co odpowiada punktowi izoelektrycznemu odbarwionych białek. Osad białkowy odbarwionych białek globulinowych uległ sedymentacji i w takiej postaci podlegał zagęszczeniu na drodze wirowania, a następnie wysuszeniu. Gotowy preparat może stanowić zarówno mokry osad, zagęszczony na drodze wirowania, jak i proszek uzyskany metodą suszenia.

Otrzymany sposobem według wynalazku preparat w postaci sypkiego proszku wysuszonego metodą liofilizacji charakteryzował się następującymi parametrami:

- barwa (oznaczana w systemie CIELab): wartość współrzędnej charakteryzującej jasność fotometryczną maleje od wartości L* = 87,0 dla nieodbarwionego preparatu hemoglobiny o barwie ciemnobrunatnej, poprzez wartość L* = 40,0 dla preparatu o odcieniu jasnobrązowym, do wartości L* = 22,0 dla preparatu o barwie jasnożółtej,
- smak i zapach – niewyczuwalne,
- zawartość białka ogółem – nie mniej niż 80% w zależności od użytego surowca,
- zawartość wody – nie więcej niż 5%.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania preparatu białkowego z gęstwy krwinek pozyskanych na drodze wirowania stabilizowanej krwi zwierzęcej, poprzez jej odbarwienie, obejmujący następujące etapy:
 - a) gęstwę krwinek rozcieńcza się wodą w stosunku 1:7,
 - b) do rozcieńczonej gęstwy krwinek dodaje się roztwór kwasu askorbinowego ciągle mieszając do uzyskania roztworu o wartości pH 3,0–3,5, zwłaszcza pH 3,5,
 - c) do mieszaniny z etapu b) dodaje się preparat odbarwiający w postaci kwasu nadmruwkowego, utrzymując ciągle mieszanie, przy czym stężenie kwasu nadmruwkowego wynosi co najmniej 1%,
 - d) odbarwione białka globinowe wytrąca się w postaci osadu w punkcie izoelektrycznym białka.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że zawartość kwasu askorbinowego w mieszaninie wynosi 3% w/v.
3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że ilość dodawanego w etapie (c) kwasu nadmruwkowego wynosi od 10 ml do 40 ml na 100 ml rozcieńczonych krwinek.
4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że białka wytrąca się w pH 6,8 za pomocą 10% roztworu NaOH.
5. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że do mieszaniny reagentów dodaje się symetykonu w celu zahamowania pienienia.
6. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że odbarwiony preparat białkowy z pkt (d) oddziela się poprzez wirowanie na wirówce separacyjnej.
7. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że odwirowany odbarwiony preparat białkowy suszy się metodą liofilizacji.
8. Sposób według któregokolwiek z zastrz. od 1 do 7, **znamienny tym**, że gęstwa krwinek pochodzi z krwi wieprzowej, wołowej, drobiowej lub ich mieszaniny.

