

CHEMIA

CZASOPISMO TECHNICZNE  
TECHNICAL TRANSACTIONS

CHEMISTRY

WYDAWNICTWO

POLITECHNIKI KRAKOWSKIEJ

2-Ch/2011

ZESZYT 10

ROK 108

ISSUE 10

YEAR 108

ZYGMUNT KOWALSKI, AGNIESZKA MAKARA, MARCIN BANACH\*

## KREW ZWIERZĘCA, METODY JEJ PRZETWARZANIA I ZASTOSOWANIE

---

### ANIMAL BLOOD, ITS APPLICATION AND PROCESSING METHODS

---

#### Streszczenie

Krew jest płynną tkanką łączną tworzącą wewnętrzne środowisko organizmu. Krew zwierząt rzeźnych jest jednym z najcenniejszych surowców ubocznych i potencjalnie najłatwiejszym do wykorzystania. Jednym z głównych sposobów przerobu krwi jest jej frakcjonowanie na plazmę oraz hemoglobinę.

*Słowa kluczowe: krew zwierzęca, właściwości fizykochemiczne, metody przetwarzania, zastosowanie*

#### Abstract

Blood is a liquid connective tissue forming the body's internal environment. The blood of slaughter animals is one of the most valuable by-product and potentially the easiest to usage. One of the main ways of processing the blood is the fractionation of plasma and hemoglobin.

*Keywords: animals blood, physical and chemical properties, methods processing, application*

---

\* Prof. dr hab. inż. Zygmunt Kowalski, mgr inż. Agnieszka Makara, dr inż. Marcin Banach, Instytut Chemii i Technologii Nieorganicznej, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska.

## 1. Wstęp

Krew jest płynną tkanką łączną o zabarwieniu czerwonym. Tworzy wewnętrzne środowisko organizmu. U zwierząt kręgowych krąży w tętnicach, żyłach i naczyniach włosowatych. Jest bardzo ważnym składnikiem organizmu, a jej brak lub znaczny ubytek doprowadza szybko do śmierci. Barwa krwi zależy od barwnika krwi (hemoglobiny), zgromadzonego w krwinkach czerwonych. Hemoglobina jest białkiem złożonym (chromoproteidem), składającym się z części białkowej (globiny) oraz barwnika (hemu). Odcień zabarwienia krwi zmienia się w zależności od wysycenia krwi tlenem. Krew tętnicza jest bogata w tlen i ma zabarwienie żywo szkarłatne, zaś krew żylna jest uboga w tlen i ma zabarwienie zbliżone do wiśniowego [1, 2].

Krew szczególnie bogata jest w żelazo występujące w hemie, które jest biologicznie najlepiej przyswajalne oraz zawiera większość aminokwasów. Zawartość krwi w organizmach zwierząt rzeźnych, w stosunku do masy, wynosi: trzoda chlewna – 4,6%; bydło – 8%; owce – 8,1%; konie – 9,8%. Z ogólnej ilości krwi, ok. 50% znajduje się w układzie krwionośnym, 20% w wątrobie, 16% w śledzionie, 4% w pozostałych narządach i 10% w skórze. W fazie uboju uzyskuje się 40–60% krwi, reszta pozostaje w organach wewnętrznych i w układzie krwionośnym [2].

## 2. Właściwości fizykochemiczne krwi

Krew zwierzęca posiada następujące właściwości [1–3]:

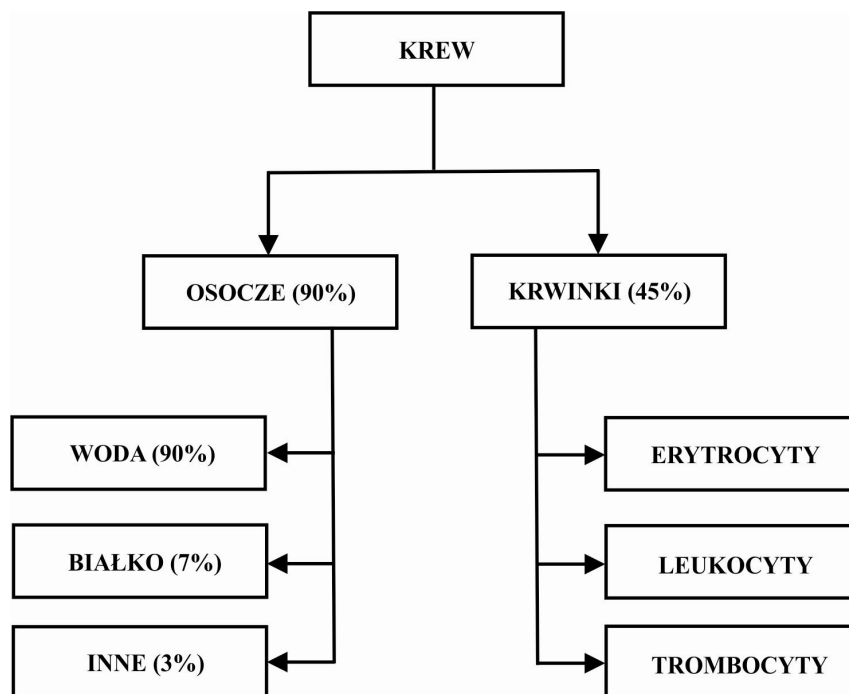
- słony smak (ze względu na zawartość w niej chlorku sodowego),
- kolor przeważnie, ciemnoczerwony,
- jest nieprzezroczysta, ponieważ krwinki powodują rozpraszanie światła,
- lekko zasadowy odczyn: pH = 7,2–7,4,
- ciężar właściwy krwi: bydłowej 1060 kg/m<sup>3</sup>, trzody chlewnej 1040 kg/m<sup>3</sup>,
- zawartość: fazy stałej 19–21%, wilgoci: 80–81%.

Krew jest dobrym źródłem większości aminokwasów [1–3]. W tabeli nr 1 przedstawiono zawartość aminokwasów w krwi wołowej, jej plazmie i globinie.

Tabela 1

Ważniejsze aminokwasy zawarte w krwi wołowej

Aminokwas	Krew wołowa (udział %)	Plazma z krwi wołowej (udział %)	Globina z krwi wołowej (udział %)
Izoleucyna	0,4–0,9	1,0–3,4	0–24,3
Leucyna	12,4–13,6	9,2–10,1	13,2–13,8
Lizyna	9,2–9,7	6,5–9,2	9,8–10,5
Metionina	1,3–1,8	0,6–1,3	1,5–1,7
Fenylalanina	7,0–8,0	5,1–5,7	7,6–8,0
Treonina	4,7–5,2	2,6–7,1	3,8–4,1
Tryptofan	1,4	0,6–1,9	1,3–2,0
Walina	8,0–9,1	6,8–7,4	9,4–9,6
Histydyna	5,6	3,0–3,5	6,6–7,8

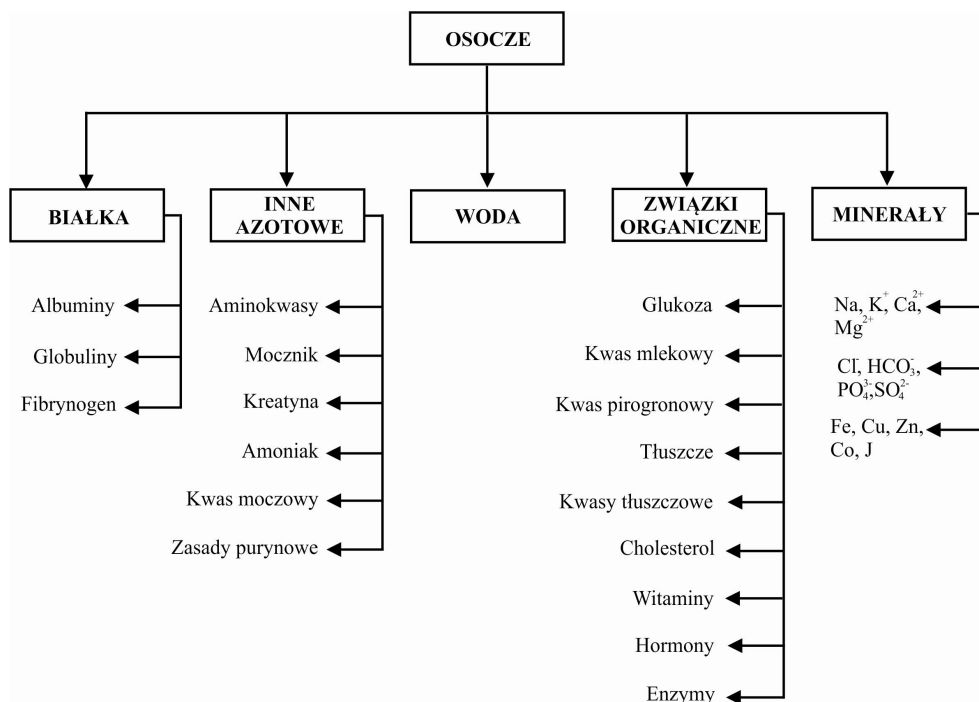


Rys. 1. Skład krwi [1]

Fig. 1. Blood composition [1]

55% objętości krwi to osocze składające się w 90% z wody (rys. 1), tworzące zawiesinę dla elementów morfotycznych (upostaciowanych), którymi są krwinki czerwone (erytrocyty i retikulocyty), krwinki białe (leukocyty) oraz płytki krwi. Zawiera także składniki organiczne (9%) i nieorganiczne (1% – głównie jony sodowe, potasowe, chlorkowe i węglanowe). Do składników organicznych należą składniki: białkowe (białka) i składniki poza białkowe (m.in. zawierające lub nie zawierające azot, lipidy osocza) [1, 2].

Najważniejszymi składnikami organicznymi krwi są białka, które dzięki różnicom wielkości i ładunku elektrycznego cząsteczek wykazują zróżnicowaną ruchliwość w polu elektrycznym. Białka dzielą się na trzy frakcje: albuminy (najmniejsze białka, stanowiące 55–60% białek osocza), globuliny (30–40%), fibrynogen (duże cząsteczki stanowiące ok. 6%) (rys. 2). Albuminy są wytwarzane w wątrobie, a ich główną funkcją jest wiązanie wody dzięki tzw. ciśnieniu onkotycznemu. Pełnią także funkcje białek transportowych dla innych substancji, przenoszących lipidowe i cukrowe składniki osocza, niskocząsteczkowe hormony (np. steroidy, hormony tarczycy), niektóre jony ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ). Globuliny stanowią bardzo niejednorodną grupę, dzielącą się na alfa 1, alfa 2, beta i gamma-globuliny. Inny podział, uwzględniający ich budowę wyróżnia mukoproteiny i glikoproteiny (połączenia białek z węglowodanami), lipoproteiny (połączenia z lipidami), globuliny wiążące jony metali (np. transferyna wiążąca żelazo czy ceruloplazmina będąca magazynem miedzi) oraz gamma-globuliny [2].



Rys. 2. Skład osocza [3]

Fig. 2. Plasma composition [3]

Gamma-globuliny wytwarzane są w węzłach chłonnych i można je utożsamić z przeciwciałami. Globuliny, podobnie jak albuminy, stanowią nośnik dla innych substancji i jonów. W tej frakcji zawarte są również enzymy krwi. Fibrynogen jest wytwarzanym w wątrobie białkiem osocza, z którego powstają, pod wpływem trombiny, cząsteczki fibryny, tworzące sieć włókien składającą się na skrzep krwi. Po oddzieleniu fibrynogenu powstaje surowica, zawierająca pozostałe składniki osocza [1–3].

Oprócz białek osocze krwi zawiera również inne składniki organiczne (rys. 2): węglowodany (głównie glukoza, kwas mlekowy), lipidy (trójglicerydy i kwasy tłuszczowe związane z białkami osocza jako lipoproteiny, cholesterol), produkty metabolizmu białek (aminokwasy, amoniak, mocznik) i metabolizmu hemu (bilirubina oraz urobilinogen). W osoczu rozpuszczony jest również kwas moczowy i kreatynina, zbędne produkty przemiany materii oraz witaminy, hormony i enzymy. Składniki te są istotne dla prawidłowego przebiegu procesów chemicznych, zachodzących w organizmie. Stanowią też produkty końcowe, przenoszone przez krew do wątroby (w celu przekształcenia w nietoksyczne pochodne) lub do narządów wydalania [1–3].

Stażość elementów osocza (głównie nieorganicznych) jest kluczowa dla prawidłowego funkcjonowaniu komórek, szczególnie nerwowych i mięśniowych. Wahania stężeń potasu i sodu mają wpływ na pracę tych układów (np. w przypadku zwiększenia stężenia potasu może dojść do zatrzymania akcji serca). Składniki nieorganiczne, wraz z białkami osocza,

pełnią też zasadniczą rolę w utrzymaniu odpowiedniego pH osocza, co nazywa się tzw. równowagą kwasowo-zasadową. W ustroju organizmów żywych cały czas tworzą się kwasy: węglowy, mlekowy, moczowy i inne. W pokarmach również znajdują się substancje o odchylnie kwaśnym bądź zasadowym. Nadmiar kwasów lub zasad należy usunąć z organizmu (przez nerki i płuca), a wcześniej zbuforować we krwi. Do najważniejszych buforów należy bufor węglowodanowy, fosforanowy oraz białka osocza i krwinki czerwone [1–3].

Zawartość niektórych składników osocza, np. glukozy i wapnia, musi być utrzymywana na stałym poziomie, regulowanym przez układ hormonalny i nerwowy. Pomiar ilościowe zawartości poszczególnych składników krwi mają ogromne znaczenie diagnostyczne, wskazują na prawidłowy lub patologiczny przebieg wielu procesów, zachodzących w organizmie.

Najbardziej istotne elementy morfotyczne krwi to krwinki czerwone czyli erythrocyty. Czas życia krwinek wynosi 120 dni. Rozpadają się one następnie w śledzionie i wątrobie. Ich główną rolę jest przenoszenie tlenu z płuc do tkanek. Te funkcje zapewnia obecność hemoglobiny składającej się z globiny, oraz z czterech cząsteczek hemu. W hemie ważną rolę odgrywa atom żelaza, który wiąże się z jedną cząsteczką tlenu, tworząc oksyhemoglobinę. Zdolność tę posiada jedynie żelazo na drugim stopniu utlenienia. Jeśli pod wpływem związków utleniających (np. anilina, azotany, nitrobenzen) żelazo utleni się do postaci trójwartościowej, tworzy się methemoglobina, która takie właściwości traci. Innym niebezpiecznym połączeniem jest karboksyhemoglobina tzw. połączenie hemu z tlenkiem węgla. Ten ostatni związek wypiera tlen z oksyhemoglobiny, czyniąc czerwony barwnik bezużytecznym. Przy rozkładzie krwinki czerwonej, hemoglobina zamienia się w biliwerdynę, a odczepione żelazo zostaje ponownie wykorzystane do produkcji nowych erythrocytów. Biliwerdyna przekształca się z kolei w powszechnie znaną bilirubinę wydalaną z żółcią do dwunastnicy [1–3].

Krwinki białe czyli leukocyty krążą we krwi w ilości od 4 do 10 tys. w 1 mililitrze. Jest to niejednorodna grupa obejmująca granulocyty, limfocyty i monocyty. Granulocyty dzielą się z kolei na obojętnochłonne (jest ich najwięcej), kwasochłonne i zasadochłonne (najmniej liczna grupa). Nazwa pochodzi od sposobu barwienia się tych komórek. Granulocyty obojętnochłonne (neutrofile) pełnią najważniejszą funkcję gdyż pochłaniają (fagocytują) i trawią niepożądanych intruzów (głównie bakterie). Granulocyty kwasochłonne (eozynofile) niszczą obce białka, a ich liczba wzrasta znacznie przy chorobach alergicznych i pasożytniczych. Granulocyty zasadochłonne (bazofile) wydzielają heparynę – czynnik powstrzymujący krzepnięcie krwi [1–3].

Limfocyty to kolejny rodzaj białych krwinek wytwarzanych przez różne narządy (szpik, grasica, węzły chłonne, śledziona). Zasadniczo dzielą się na limfocyty T i B. Pierwsze odpowiadają za reakcje odpornościowe typu komórkowego, czyli takie, w których uczestniczą całe komórki, zaś limfocyty B odpowiedzialne są za tworzenie przeciwciał (reakcje odpornościowe typu humoralnego). Płytki krwi, stanowiące elementy morfotyczne krwi, są fragmentami bardzo dużych komórek – megakariocytów, powstających w szpiku kostnym. Średnio w 1 ml krwi znajduje się 250 tys. płytek. Ich czas życia wynosi 8–10 dni. Płytki krwi odgrywają bardzo ważną rolę w hamowaniu krwawienia (w hemostazie) poprzez przyłączenie się w miejscu uszkodzenia naczynia i utworzenie czopu, który jak korek zatyka powstałą przerwę. Ponadto z płytek uwalniają się substancje kurczące krwawiące naczynia, co dodatkowo hamuje krwawienie [1–3].

### 3. Funkcje krwi w organizmie żywym

Rola krwi jest bardzo zróżnicowana. Do głównych jej funkcji należą [1–3]:

1. Funkcje transportowe: tlenu, dwutlenku węgla, substancji pokarmowych, produktów przemiany materii, hormonów.
2. Funkcje homeostatyczne czyli utrzymujące stałość parametrów biochemicznych i biofizycznych organizmu, takich, jak: termoregulacja, osmoregulacja, utrzymanie pH.
3. Funkcje obronne.

Najistotniejszą z funkcji krwi jest funkcja transportowa. Każda komórka musi nieustannie pobierać materię z otoczenia, przyswajając ją i przetwarzając, by zyskać energię i budować lub odtwarzać swoją strukturę. Wszelkie produkty uboczne tych przemian, są gromadzone i usuwane na zewnątrz komórki, w związku z czym w najbliższym otoczeniu komórki ubywa składników potrzebnych do życia, a przybywa szkodliwych i trujących produkty przemiany materii. W organizmach wyżej zorganizowanych, olbrzymia liczba komórek żyje w bardzo małej objętości płynu międzykomórkowego. Zużycie i zatrucie tego płynu nastąpiłoby bardzo szybko, gdyby nie podlegał on ciągłej regeneracji. Powstaje on na nowo z tego, co przesiąka z krwi przez ściany naczyń włosowatych. Równocześnie odpowiednia część płynu tkankowego przenika z powrotem do naczyń krwionośnych lub przez naczynia chłonne wraca do krwi na drodze okrężnej. Tak więc za pośrednictwem płynu tkankowego krew dostarcza komórkom wszystkich składników potrzebnych do życia i ona też odbiera wszelkie produkty przemiany materii [1–3].

Aby krew nie straciła swych składników odżywczych i nie zatrąła się szkodliwymi produktami przemiany materii, musi bezustannie krążyć i przepływać przez układy resorbcyjne (płuca, wątrobę, gruczoły dokrewne, przewód pokarmowy) oraz narządy odtruwające i wydalające (wątrobę, nerki, płuca, skórę). Krew spełnia więc rolę transportu aprowizacyjnego, oczyszczającego, termoregulacyjnego i scalającego. Transportuje również hormony, biorąc udział w regulacji wielu reakcji biochemicznych w ustroju. Mniej znaną funkcją związaną z transportem jest udział krwi w termoregulacji. Krew odbiera ciepło z okolic, w których produkowane jest ono w nadmiarze (np. z wątroby i z mięśni), i przenosi je do chłodniejszych regionów. Dzięki temu organizm utrzymuje w miarę stałą temperaturę w całym ciele, jedynie z niewielkimi różnicami pomiędzy różnymi rejonami [1–3].

Kolejnym zadaniem krwi jest homeostaza, czyli utrzymanie stałych fizykochemicznych własności wewnętrznego środowiska ustroju. Dzięki temu, pomimo działania różnych czynników, zmierzających do wprowadzenia zmian, parametrów krwi (pH, ciśnienie osmotyczne, ilość wody, białek, soli, ciężar właściwy, lepkość, skład komórkowy), nie ulegają one zmianie. Krew spełnia także hydrodynamiczną rolę w układzie krążenia. Serce i naczynia krwionośne nie mogłyby tłoczyć i rozprowadzać krwi gdyby jej objętość ulegała wielkim zmianom. Ilość krwi utrzymywana jest na stałym poziomie, choć w szerokich granicach może wahać się jej przepływ przez odpowiednie narządy w zależności od ich stanu czynnościowego [1–3].

Ważną funkcją krwi jest obrona ustroju przed ciałami obcymi oraz przed wykrwawieniem. Komórki krwi zdolne są do wytwarzania produktów, które nie są konieczne dla ich przetrwania, ale są potrzebne do funkcjonowania innych komórek albo organizmu jako całości. Przykładem jest grupa genów, które umożliwiają określonym komórkom rozpoznawanie obcych substancji lub komórek (antygenów). Komórki te pełnią wyspecjalizowane,

genetycznie zaprogramowane funkcje obronne i tworzą układ immunologiczny. Wniknięcie antygeny do organizmu zapoczątkowuje szereg złożonych procesów komórkowych i molekularnych, w których biorą udział limfocyty będące głównymi komórkami odpowiedzi immunologicznej i inne komórki określane jako pomocnicze [1–3].

#### 4. Pochodne krwi i metody ich otrzymywania

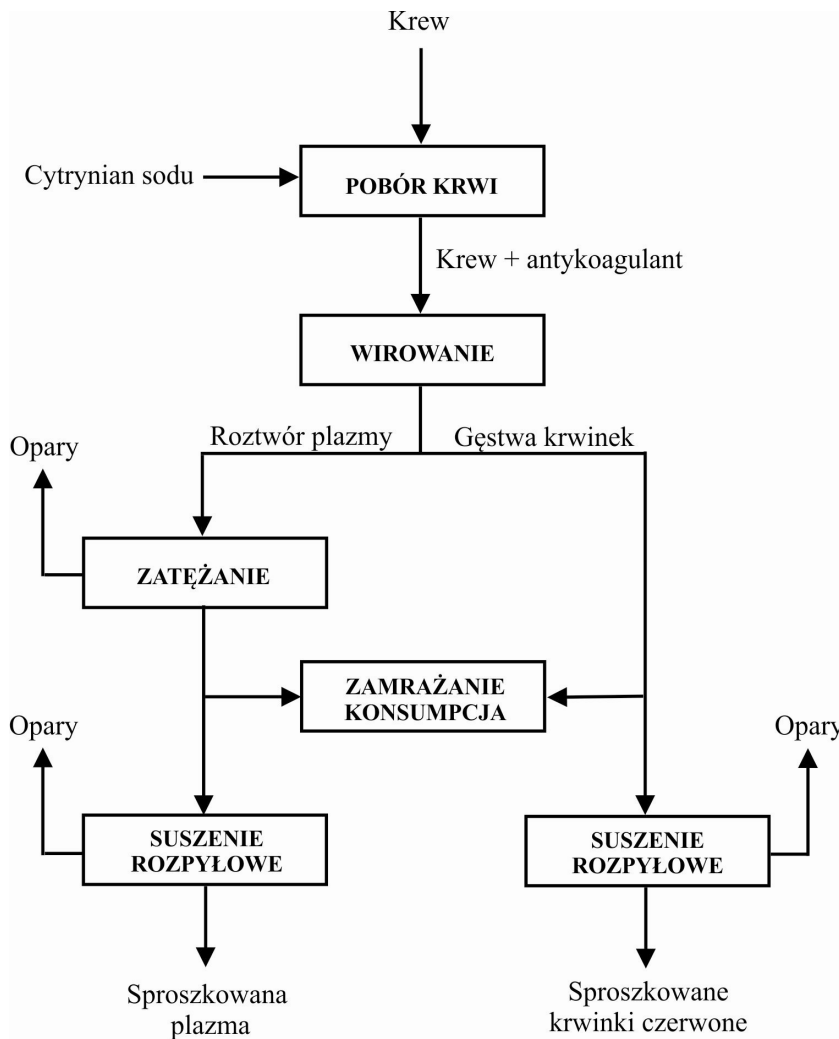
Krew pobrana ze zdrowych zwierząt jest zasadniczo sterylna i jeśli zbierana jest z przebitej rany zwierząt metodą zatwierdzoną przez inspekcję weterynaryjną (często zawierającą specjalnie zaprojektowany wydrążony nóż rurkowy, do którego przyłączony jest wąż, pozwalający na przepływ krwi do zbiornika) pozostaje w obszarze żywności przeznaczony do konsumpcji przez ludzi [4, 5].

Jednym z głównych sposobów przerobu krwi jest jej frakcjonowanie na plazmę oraz hemoglobinę. Krew, która przeszła inspekcję weterynaryjną, jest zwykle podawana na wirówkę w celu rozdzielania jej na plazmę i erytrocyty (rys. 3). Frakcja krwi jest wówczas chłodzona i przepompowana do zbiornika zasobnikowego. W celu zapobiegania koagulacji do krwi dodaje się w odpowiednich proporcjach antykoagulant. Przeważnie jest nim cytrynian trójsodowy lub kwas cytrynowy. Cytrynian sodu zapobiegając koagulacji przekształca wapń w formę nie zjonizowaną, używany jest w ilości 3 g/l krwi. Regulacje dotyczące użycia cytrynianu w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym są zróżnicowane w zależności od kraju. Do koagulacji może być stosowana sól dwu sodowa kwasu etyleno-diamino-tetraoctowego (EDTA) tworząca chelaty z jonami wapnia. EDTA może być stosowana w ilości 2 g/l i jest dopuszczona do użytku zarówno w przemyśle spożywczym, jak i farmaceutycznym większości krajów [6–9].

Jako antykoagulanty mogą być stosowane szczawiany sodu ( $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ), lub potasu ( $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ), które przed użyciem wymagają wcześniejszego strącenia wapnia. Są używane w postaci 30% roztworu wodnego w ilości 1g/l krwi, ze względu na to, że szczawiany są trujące i nie można ich dodawać do krwi stosowanej w celach spożywczych lub farmakologicznych. Naturalnym składnikiem krwi przeciwdziałającym koagulacji krwi w czasie krążenia w organizmie zwierząt jest heparyna. Handlowo dostępna jest ona w solach sodu, litu lub wapnia, inhibituje formowanie się trombiny z protrombiny. Jeśli krew ma być stosowana w produkcji żywności lub farmakologii, wówczas heparyna stosowana jest w ilości 200 mg/l krwi [8–9].

Krew może być przetwarzana w całości (rys. 3) lub przepompowuje się ją na wirówkę oddzielającą lekką plazmę (52–70%) od ciężkich erytrocytów (30–48%). Po odwirowaniu rozdzielone frakcje, jeżeli wcześniej nie były schłodzone, są schładzane do temperatury 2°C. Poszczególne frakcje są pompowane do zbiorników magazynowych do przetrzymania lub do zamrożenia poprzedzającego wysyłkę towaru. Frakcje mogą być zamrożone w maszynie do płatkowania lodu i rozdzielane w stanie zamrożonym, lub mogą być suszone (suszenie często skutkuje brakiem zapachu). Kolor plazmy wołowej zawierającej globuliny, albuminy i fibrynogen powinien być żółty lub pomarańczowy, zaś plazma świńska powinna być szarobiała lub różowa. Ciemniejszy kolor plazmy wynika z obecności hemoglobiny, która pochodzi z niekompletnej separacji lub z powodu hemolizy erytrocytów. Hemolizie (rozpad komórek) można zwykle zapobiec poprzez ostrożne mechaniczne traktowanie krwi i zmini-





Rys. 3. Rozdział krwi na suche frakcje

Fig. 3. Partition of blood on the dry fractions

malizowanie rozcieńczania krwi wodą podczas operacji mycia. Rozcieńczenie krwi obniża ciśnienie osmotyczne w plazmie, co skutkuje pękaniem erytrocytów. Właściwie wytworzona surowica z młodego zwierzęcia bydlęcego powinna zawierać poniżej 20 mg hemoglobiny/dl, endotoksyny w ilości 1 ng/ml [6–8].

Zasadniczą kwestią jest utrzymywanie odpowiedniej higieny systemu gromadzenia krwi i w większości jednostek znajdują się automatyczne urządzenia czyszczące. Jeśli higiena jest utrzymywana na odpowiednim poziomie, krew powinna zawierać mniej niż 2000 ogólnej liczby zliczonych organizmów na ml krwi i pozostawać niezmienną w ciągu kilku dni



przechowywania w temperaturze 2°C. Krew przeważnie zateża się przez odparowanie wody lub poprzez filtrację membranową. Następnie skoncentrowana plazma oraz roztworu czerwonych krwinek są poddawane suszeniu rozpyłowemu [10].

Frakcja erytrocytów ma około 35% suchej materii i może być suszona bez zateżania. Zwykle stosuje się oddzielne suszarki rozpyłowe dla erytrocytów i dla plazmy, ze względu na trudności czyszczenia urządzenia w celu uniknięcia zabarwienia plazmy. Skład poszczególnych frakcji krwi przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2

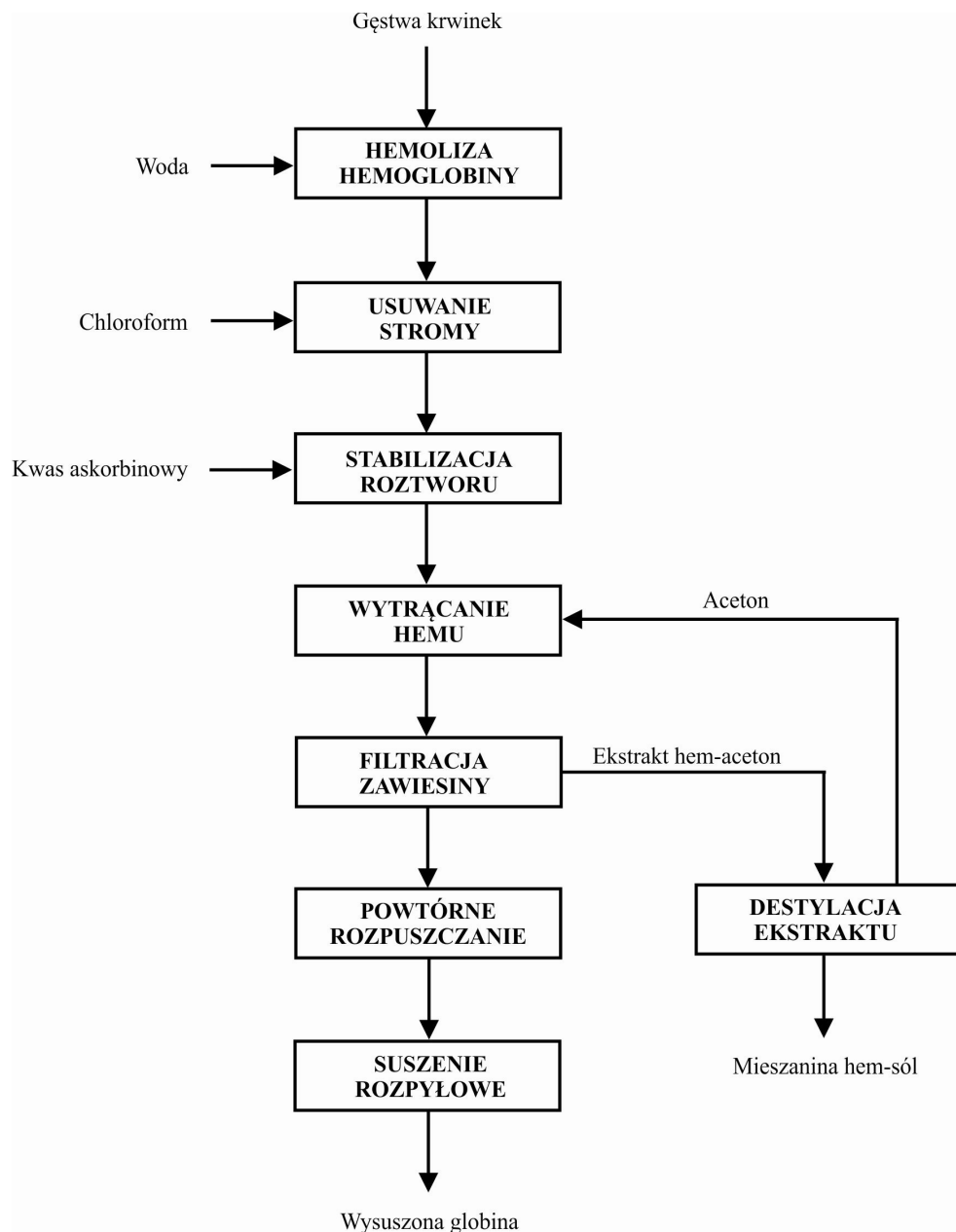
### Skład poszczególnych frakcji krwi

Nazwa frakcji	Krew	Plazma	Koncentrat czerwonych ciałek krwi	Sucha plazma	Sucha hemoglobina
Części stałe	18–20	8–9	28–37	96–97,5	96,5
Proteiny (%)	13–15	6–8	28–38	70–96	91–95,4
Frakcja Albumin (% protein)		50			
Globuliny (% protein)		23–27			
Fibrynogen (% protein)		17–23			
Tłuszcz (%)	<1	0,1–1	1	0–1,5	0
Węglowodany	<1	<1	<1	–	–
Sole (%) <sup>1</sup>	2	1,5	1–3	2 lub < 2	1–6
Woda (%)	80–82	90–91	61–63	2,5–7,0	3,5

Poziom zależy od ilości i rodzaju użytego antykoagulantu

Aby zredukować charakterystyczny ciemny kolor hemoglobiny, można zastosować, znane od wielu lat, wybielanie roztworem nadtlenu wodoru ( $H_2O_2$ ). Odbarwione proteiny koaguluja w małe kulki o średnicy około 1–2 mm, które mogą być zbierane poprzez filtrację. Otrzymany produkt jest mdły w smaku i nierozpuszczalny w wodzie, dodany do kiełbasy jest inertny. Alternatywą utleniania jest usunięcie grupy hemowej z hemoglobiny, poprzez skorygowanie pH do 2. Jeśli dodany jest roztwór zawierający ketony lub alkohole o dużym stężeniu, grupa hemowa pozostaje w roztworze, a globina strąca się, z powodu denaturacji cząsteczek. Dla tej reakcji ketony są zazwyczaj bardziej efektywne niż alkohole. Jeśli globina jest strącana w niskich temperaturach, może być ponownie rozpuszczona w wodzie i jest prawie całkowicie wolna od hemu [1–3].

W przeciwieństwie do osocza, frakcja globiny nie tworzy żelu podczas ogrzewania, ale po podgrzaniu pęcznieje, ponieważ posiada dużą zdolność wiązania wody oraz większą zdolność do pienienia niż osocze i jest stosunkowo odporna na zmianę pH i zawartość soli. Usunięcie grupy hemowej zmniejsza stabilność cząsteczek protein globiny i w konsekwencji proteiny są znacznie bardziej wrażliwe na czynniki denaturacji i ciepło. Rozpuszczalność globin jest zredukowana w zakresie pH 6–9. Wyizolowane globiny przy zastosowaniu aceto-



Rys. 4. Schemat procesu przygotowania globiny przez usunięcie hemu [1, 10]

Fig. 4. Diagram of globin preparation process by the heme removing

nu są bezsmakowym komponentem przywierającym do cząsteczek protein. Jedną z procedur usuwania hemu acetonem przedstawiono na rysunku 4. Z żywieniowego punktu widzenia, usuwanie lub wybielanie grup hemowych powoduje obniżenie wartości biologicznej i czyste wykorzystanie protein, co wydaje się być bardziej znaczące przy bieleniu niż przy procedurze usuwania hemu z hemoglobiny. Alternatywną metodą uniknięcia ciemnej pigmentacji jest roztwarzanie hemoglobiny (rys. 5) [1, 10].

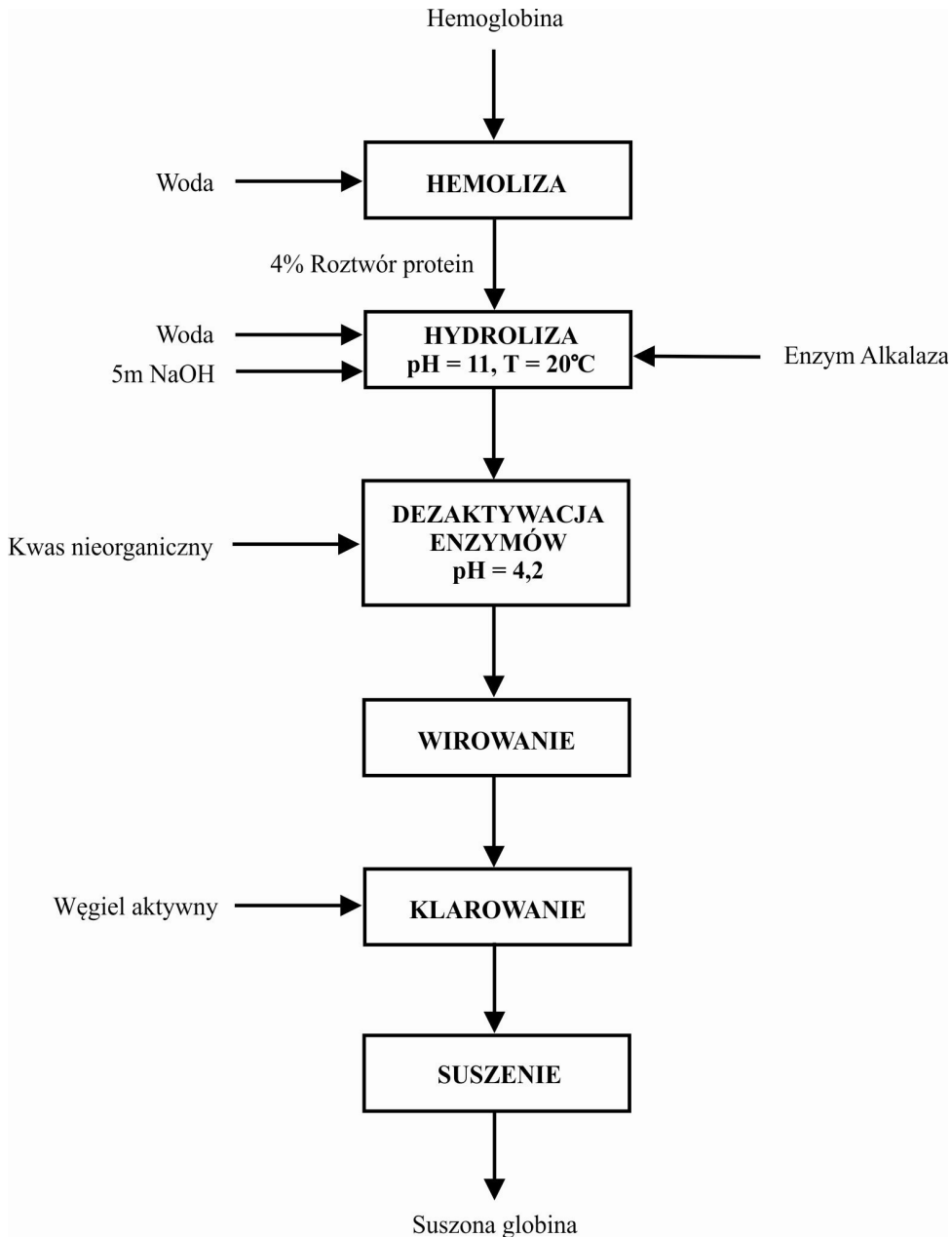
Jasny, gorzki i aromatyczny roztwór, zawierający 7% protein (przez częściową hydrolizę enzymatyczną erytrocytów) można otrzymać w wyniku hemolizy erytrocytów. Hemoliza prowadzona jest poprzez dodanie 2 objętości wody (w stosunku do objętości hemoglobiny), skorygowanie pH do 3,9–4,0 (poprzez dodawanie 1m kwasu solnego), a następnie fermentację prowadzoną w czasie 12 godzin w temperaturze 50°C. Enzymem stosowanym w tym procesie jest proteinaza otrzymywana z kwasowych drożdży. Po zakończeniu fermentacji, pH jest korygowane do 4,9–5,0. W wyniku wirowania następuje rozdzielanie na białozółtą ciecz zawierającą 8% protein, oraz brązowy osad zawierający 12% protein [1–3]. Proteiny z cieczy odpowiadają zawartości 55% protein w erytrocytach i mają przyjemny smak.

Gorzki smak z erytrocytów hydrolizowanych enzymatycznie może zostać usunięty poprzez potraktowanie silnymi kwasami, np. kwasem solnym, oraz działanie aktywnym węglem lub odwadnianie parą wodną. Wartość żywieniowa produktów hydrolizy jest znacznie obniżona, z powodu zniszczenia tryptofanu, zaś zawartość popiołu jest przeważnie wysoka.

Zamaskowanie koloru, poprzez zmniejszenie jego intensywności, prowadzono przez zmieszanie krwi z odtłuszczonym mlekiem i strącanie protein. Taki produkt o wilgotności 70–75% stosowany był w produktach kielbasianych na poziomie 15%. Inną możliwością rozjaśnienia koloru jest stworzenie emulsji krwi z tłuszczem i obróbka jej w homogenizatorze, gdzie zredukowana jest intensywność barwy. Produkt ten był w zadowalającym stopniu stosowany w kielbasach przy poziomie krwi wynoszącym 10%.

Ważną pochodną krwi jest surowica [9], która jest wolną od fibryny plazmą. Jest ona zwykle otrzymywana przez sterylne wykrwawianie zwierząt w czasie uboju lub od zwierząt specjalnie hodowanych, których krew przeznaczona jest do produkcji surowicy. Krew zbierana jest w uboju bez dodatku wapnia, a następnie skrzepnięta krew jest chłodzona na perforowanych tackach (20 siatek) i cięta ostrym ostrzem w kostki (1–2 cm). Surowice można odsączyć od krwi. Pierwsza frakcja zbierana w czasie 2 h jest znacznie zabarwiona, druga frakcja zbierana przez 12–14 h zawiera zawieszane komórki krwi, zaś trzecia frakcja jest słabo zabarwiona. Surowica otrzymywana w pierwszych 2–3 h jest odrzucana ze względu na kolor, natomiast kolejny 12-godzinny odbiór jest czysty z wyjątkiem kilku zawieszonych czerwonych komórek krwi. Następnie surowica jest wirowana przez 30–40 min. w 10°C i następnie dezaktywowana przez ogrzewanie w czasie 30 minut w temperaturze  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ . Plazma jest suszona rozpyłowo, próżniowo lub na suszarce bębnowej. Suszenie powinno być prowadzone w temperaturze  $< 60^\circ\text{C}$ , aby zapobiec denaturacji [11–13].

Bezpośrednio z krwi otrzymuje się również frakcję białkową, w szczególności albuminy [9, 13], które mogą być również wytwarzane z płynnej krwi zawierającej antykoagulant. Po zebraniu i dodatku antykoagulanta krew jest magazynowana w chłodni przez 10–12 h lub odwirowuje się ją, a następnie odsysa sunoszącą się na powierzchni płynną plazmę. Dobrej jakości albuminy krwi są koloru słomkowego, są rozpuszczalne w cieplej wodzie, koagulują w 70°C, zawierają: 80% protein, 5% wilgoci i 15% soli. Powinny być przechowywane w chłodnym miejscu w zbiornikach nie przepuszczających powietrza.



Rys. 5. Schemat procesu enzymatycznej hydrolizy hemoglobiny, z użyciem aktywnego węgla do usunięcia heminy [1–3]

Fig. 5. Diagram of the process of enzymatic hydrolysis of hemoglobin, using activated carbon to remove the hemin [1–3]

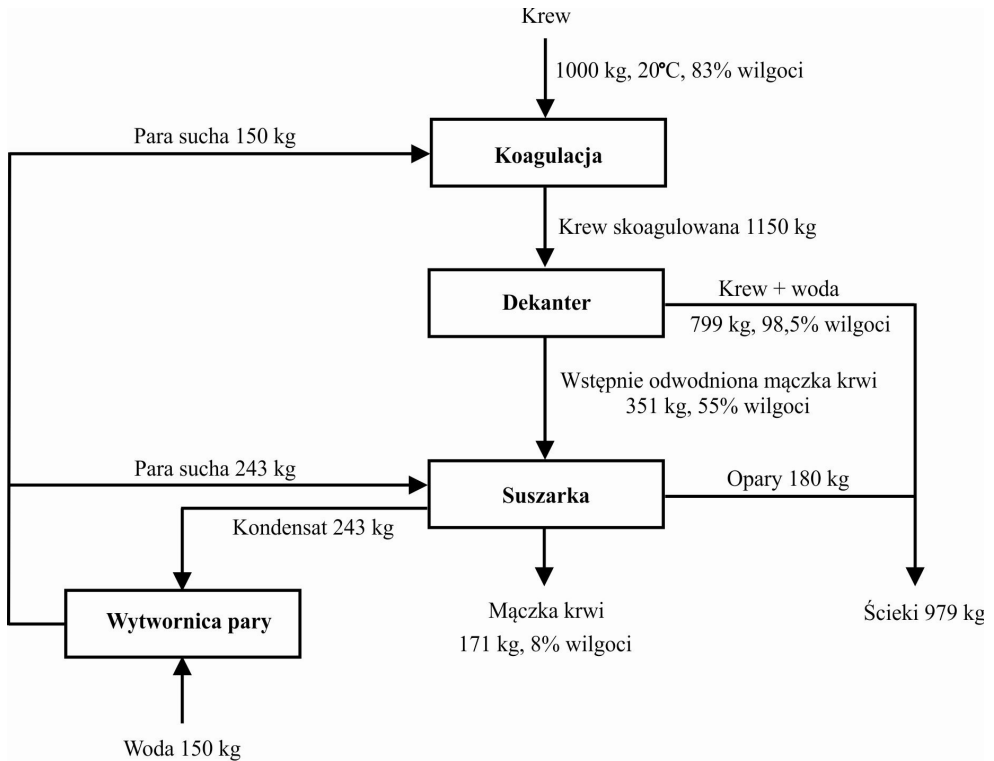
Pastę z czerwonych krwinek otrzymuje się z hemoglobiny powstającej podczas wirowania krwi. Pasta z erytrocytów może być również otrzymana z czerwonych krwinek po separacji z plazmy przy produkcji albumin krwi. Pasta erytrocytów jest następnie sterylizowana przez ogrzewanie w 58–60°C w czasie 30 minut (zabijane są komórki wegetatywne) poprzedzone całonocną inkubacją w 37°C. Proces ten powtarza się do czasu, gdy pasta wykazuje wynik ujemny dla wzrostu bakterii. Produkt podaje się na wyparkę próżniową w temperaturze nie przekraczającej 60°C, a osiągnięta wydajność wynosi 25–30% masy całej krwi [13].

Poprzez suszenie krwi lub usuwanie ciężkich komponentów przy odzysku plazmy lub surowicy krwi można otrzymać ciemnobrazowy, suchy (5–8% wilgoci), granulowany produkt zwany mączką krwi. Wydajność otrzymywania mączki krwi z krwi wynosi około 20%. Krew często przepuszcza się przez dekanter w celu separacji skoagulowanej krwi. Mączka jest następnie gotowana w podwójnym kotle (lub płaszczu) lub przez bezpośrednie wtrysk pary wodnej z mieszaniem w celu uniknięcia osadzania. W celu zmniejszenia wydzielającego się podczas suszenia zapachu stosowany jest czasami dodatek tlenu wapnia w ilości 0,5–1,5%. Krew zmieszana z wapnem ma gumowatą konsystencję, można ją magazynować w 20°C przez 24 h i zawiera 80–85% wilgoci. Ciemnobrazowy ugotowany produkt posiada kruchą konsystencję i jest prasowany w celu usunięcia wilgoci oraz suszony na słońcu lub podgrzewany w 60°C. Do wysuszenia produktu można zastosować suche wytapianie [13]. Mączka krwi jest często ogrzewana do 100°C przez 30 minut, chłodzona i magazynowana bez dostępu powietrza.

Nowsze technologie, w celu zaoszczędzenia energii potrzebnej do odparowania, wykorzystują techniki odwadniania poprzedzające suszenie krwi (rys. 6) [2, 11]. Przefiltrowana krew jest podgrzewana (55–58°C) w zbiorniku magazynowym i przepompowana do koagulatora (ze świeżą parą), gdzie następuje koagulacja protein krwi. Skoagulowana krew jest następnie podawana na cylindryczny wirnik zawierający osiowy przenośnik śrubowy, gdzie usuwa się 75% wody. Okruchy odwodnionych protein krwi kierowane są na kuchenkę suszącą do ostatecznego wysuszenia.

Wysoka temperatura i/lub wydłużone okresy czasu suszenia obniżają wartość odżywczą mączki krwi. Redukcja strat protein w trakcie suszenia została stwierdzona dla suszenia ze złożem fluidalnym. Modyfikacją tej metody suszenia jest homogenizacja krwi, zateżnienie jej do 25–30% części stałych przez ultrafiltrację i następnie suszenie na suszarce ze złożem pseudofluidalnym. Do separacji i zbierania suchej krwi wykorzystuje się cyklony, a krew otrzymana w ten sposób jest w ok. 90% rozpuszczalna w wodzie (tab. 3) [12, 13].

Płynna krew może być również przetworzona w suchy produkt przez gotowanie 5–10 minut (z dodatkiem lub bez wapna), mieszanie krwi z suchymi otrębami ryżu, dobrze posiekaną słomą lub suchymi zawartościami żołądka. Produkt jest następnie suszony na powietrzu lub w piecu i stosowany jako podstawowy dodatek do pasz.



Rys. 6. Produkcja mączki krwi metodą wstępnego odwadniania Westfalia Separator

Fig. 6. The production of blood meal using a preliminary drainage Westfalia Separator

Krew może być konserwowana wskutek peklowania 3% handlowym kwasem siarkowym. Peklowany produkt może być wykorzystany w diecie zwierząt morskich lub lądowych [2, 13]. W tym przypadku w celu produkcji mączki krwi o wysokiej zawartości lizyny może być suszona na powietrzu [2, 13].

Węgiel aktywny zwierzęcy z krwi produkowany jest przez działanie na krew np.  $ZnCl_2$ ,  $K_2SO_3$ ,  $KCN$ ,  $H_3PO_4$  i innych oraz ogrzewanie w piecu bez dostępu powietrza do 650–750°C przez 6–8 godzin. Węgiel zwierzęcy z krwi zawiera 80% węgla. Pięć ton krwi lub 1 t mączki krwi daje około 300 – 400 kg zwierzęcego węgla z krwi, który zawiera 80% węgla [2].

Krew można stabilizować poprzez chemiczną konserwację [1–3], stosując urynę (1%), amoniak (0,5%) lub najbardziej efektywny  $Na_2S_2O_3$  (1%). Krew bez dodatku antykoagulantów może być mieszana z pirosiarczynem sodu, a następnie z 20% roztworem kwasu solnego w celu uzyskania pH ( $3,2 \pm 0,3$ ) stabilizującego krew. Zakonserwowana krew może być przechowywana bez chłodzenia.

Skład mączki krwi

Składnik oznaczany	Jednostka	Zawartość
Wilgoć	%	8–12
Proteiny		75–83
Arginina		3,6
Kwas glutaminowy		4,5
Histrydina		5,0
Lizyna		6,3
Leucyna		14,1
Izoleucyna		0,3–0,9
Metionina	%	1,2
Cysteina		1,5
Fenyloalanina		5,9
Treonina		3,8
Tryptofan		1,1
Tyrozyna		2,3–2,8
Walina		8,2
Glicyna		4,2
Tłuszcz	%	1,2–1,6
Surowe włókna	%	0,8
Popiół		3,5–5,6 <sup>1</sup>
Wapń		0,3–0,4 <sup>1</sup>
Żelazo	%	0,4
Magnez		0,2
Fosfor		0,2
Siarka		0,4
Mangan		5,3
Miedź	mg/kg	9,9
Cukier	%	0,4
Ekstrakt wolnego azotu	%	2,6
Kwas nikotynowy		31,5
Kwas pantotenowy	mg/kg	1,1
Ryboflawina		1,5

<sup>1</sup> Wyższa zawartość, jeżeli proces z wapnem [13]



Plazmę można zamrozić w wyniku umieszczenia jej na pionowym, obrotowym bębnie mającym temperaturę  $-10^{\circ}\text{C}$  do  $-40^{\circ}\text{C}$ , a następnie jej zeszkobanie z powierzchni w postaci płatków. Dużą uwagę w produkcie suszonym należy zwrócić na utrzymanie denaturacji protein na minimalnym poziomie, ponieważ obniża to jakość suchej frakcji. Zazwyczaj bardziej ekonomiczne jest poddać plazmę przed procesem suszenia procesowi koncentracji.

Najprostszym, aczkolwiek krótkoterminowym sposobem przedłużenia przydatności krwi i jej pochodnych, jest mrożenie produktów. Dodatkowo, szczególnie w przypadku surowicy, stosuje się także suszenie oraz liofilizację.

## 5. Zastosowanie krwi i jej pochodnych

Krew zwierząt rzeźnych jest jednym z najcenniejszych ubocznych surowców i potencjalnie najłatwiejszym do wykorzystania. O przydatności użytkowej krwi decyduje praktycznie zawartość łatwo strawnych białek, które powinny stanowić składnik żywności człowieka, a gdy jest to niemożliwe – składnik paszowy. W każdym przypadku należy dążyć do kompleksowego wykorzystania wszystkich składników krwi [2, 13–16].

Plazma krwi po ogrzaniu tworzy żel, a gotowanie jej w czasie 15–20 minut powoduje tężenie wskutek denaturacji białek plazmy, polimeryzacji protein, prawdopodobnie poprzez kondensację kwasu aminokarboksyłowego. Zestalenie plazmy powoduje, zamykanie tłuszczu przez utworzony żel i usunięcie wody z matrycy białka. Wzrasta objętość, wytrzymałość żelu zwiększa się liniowo w zakresie temperatur  $75\text{--}95^{\circ}\text{C}$ . Maksymalną wytrzymałość żelu można uzyskać poprzez ogrzewanie w  $90^{\circ}\text{C}$  w czasie około 1 godziny oraz wzrost stężenia soli i pH. Powstawanie żelu związane jest z denaturacją cząsteczek protein, która zachodzi w temperaturze  $67\text{--}73^{\circ}\text{C}$  przy pH 5,8–6,8. Podczas denaturacji rozpada się łańcuch peptydowy i odsłaniane są nowe reaktywne obszary, zachodzą reakcje pomiędzy obszarami hydrofobowymi, formacjami wiązań typu  $\text{--S--S--}$  i wzajemne oddziaływania elektrostatycznie naładowanych grup. Przypuszcza się, że kondensacja aminokarboksyłowa jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za formowanie się żelu, zaś według innych autorów w tym przypadku główną rolę odgrywają siły elektrostatyczne [16, 17].

Proteiny plazmy, takie jak albuminy czy globuliny, są również dobrymi środkami emulgującymi. Tworzenie emulsji tłuszczu w produktach kielbasianych przez plazmę i jej możliwość utrzymywania tłuszczu podczas ogrzewania kielbasy jest bardzo przydatne. Zwykle zmiany stężenia soli i pH produktów kielbasianych mają nieznaczny efekt na pojemność emulsyjną. W porównaniu z innymi dodatkami kazeina jest lepszym emulgatorem od plazmy krwi, ale plazma jest lepsza niż soja i białka mięsa. Jeżeli plazma jest wykorzystywana w mięsnych produktach kielbasianych, obniża kurczenie się i zwiększa wydajność (około 4–5%), a tekstura finalnego produktu staje się bardziej sztywna ze względu na własności żelujące plazmy. Jeżeli stosuje się większe stężenie (zwykle nie więcej niż 2% protein plazmy), efektem może być lekko gumowaty produkt mięsny. W przypadku dodania bezpośrednio do mieszanki mięsa, plazma może być również włączona do solanki używanej do pompowania mieszanki konserwującej stałe produkty mięsne. W mieszaninie konserwującej do 50% wody może być zastąpione solanką zawierającą 4% protein plazmy krwi [14].

Zastosowanie plazmy w produkcji pieczywa również wykazuje zalety. Plazma ma dobre właściwości pieniące (równoważne z albuminami jajek) i zakwaszające, dlatego rozpyłowo

wysuszona plazma może być stosowana jako substytut jajka. Zdolność pienienia plazmy może być wzmocniona jeżeli proteiny plazmy są strącane przez heksametafosforan sodu ( $\text{NaPO}_3$ )<sub>x</sub> przy pH = 4,4 i ponownym rozpuszczeniu przy pH = 6,5. Plazma w ilości 2 – 6% jest dobrym substytutem mąki do pieczenia chleba, a jej dodatek daje znaczny wzrost objętości pieczywa. Zwiększanie poziomu plazmy powoduje ciemnienie skórki i sprawia, że tekstura jest bardziej otwarta i chropowata, jednakże 2% dodatek plazmy jest akceptowalny z punktu widzenia smaku i zapachu. Dodatek plazmy zwiększa ponadto jakość proteinową produktu. Dodatek 2% sproszkowanych protein plazmy w pieczywie powoduje 15% wzrost protein i w przybliżeniu 75% zwiększenie ilości lizyny w porównaniu z produktami bez dodatku plazmy [16–18].

Plazma krwi jest również przekształcana w akceptowalne analogi mięsne. Tego typu tekstura protein plazmy jest wytwarzana przez dodatek NaOH, regulację lepkości, i dodatek do kąpieli koagulującej kwasu i/lub soli.

Oddzielenie osocza od erytrocytów powoduje, że główna część zawartych protein (60–70%) pozostaje w hemoglobinie we frakcji erytrocytów, dając w większości żywności, do której jest dodawana w ilości powyżej 1%, niepożądany ciemno czerwony kolor. Hemoglobina jest również uważana za dobry katalizator oksydacji nienasyconych kwasów tłuszczowych, jednakże przy wysokim jej stężeniu wykazuje efekt inhibujący oksydację tłuszczów. Zastosowanie hemoglobiny ze względu na kolor jest ograniczone do produktów, w których ciemny kolor jest tradycyjny, np. czarna kielbasa, czarny pudding, krwisty chleb. Zapotrzebowanie dla tego typu produktów jest jednakże ograniczone i tylko niewielki procent dostępnej hemoglobiny może być użyty [16–18].

Po dodaniu do składników mięsa plazma wiąże wodę. Ponadto posiada dobrą zdolność stabilizacji emulsji przy pH 5, która praktycznie zanika przy pH 7. Ma również dużą zdolność formowania piany.

Jasnoczerwony kolor krwi jest uważany za pożądaną cechę krwi, wówczas gdy jest ona stosowana w bardzo małych ilościach jako dodatek koloryzujący produkty mięsne. Jest to szczególnie użyteczne w krajach, gdzie czerwone barwniki jako pigmenty są niedozwolone w użyciu. Hemoglobina jest często konserwowana poprzez dodatek cukrów, aby osiągnąć wartość aktywności wody na poziomie 0,82–0,83. Pigment stosowany jako dodatek może składać się z: 45,6% suchej materii hemoglobiny, 38,7% stałego syropu kukurydzianego, 6,8% monohydratu D–glukozy, 2,5% soli, i 6,4% glikolu propylenowego [13, 14]. Taka mieszanka musi być przechowywana poniżej 4°C w celu opóźnienia wzrostu bakterii do momentu jej zastosowania. Zwykle pigment używany jest w ilości 5–20 g/kg finalnego produktu (0,5–2%).

Surowica może być stosowana w laboratorium jako standardowe rozwiązanie dezaktywacji proteolitycznych enzymów, jako medium dla wzrostu wirusów i medium bakteriologiczne. Albuminy krwi (komercyjna nazwa to sucha surowica krwi) lub wysuszona plazma mogą być stosowane jako substytut w żywności albumin wysuszonych jajek, w celu wprowadzenia połysku na wykończonej skórce, jako rozwiązanie dla powłoki litograficznej, jako klej i barwnik materiałów włókienniczych oraz jako stabilizator w paszach.

Pasta z czerwonych krwinek, cząstki pasty lub wolne od plazmy czerwone krwinki są surowcem do produkcji heminy i aminokwasów. Pasta z erytrocytów jest surowcem do izolowania leucyny, lizyny, histydyny, fenyloalaniny, heminy i sfingomieliny [1, 2].

Mączka krwi używana jest jako pasza (80% protein) lub jako nawóz (12% N, 0,22% P, pierwiastki śladowe), zwykle jest mieszana z superfosfatem. Znajduje zastosowanie jako dodatek pokarmowy dla cieląt oraz do pasz dla świń i drobiu. Jest mniej strawna od mączki mięsnej. Krew suszona rozpyłowo może być również użyta jako lepiszcze, w emulsjach asfaltowych, w środkach owadobójczych, w ceramice oraz jako substytut dla albumin jajek, wówczas gdy kolor nie ma znaczenia.

Mieszanina krwi i obornika żwaczy (zawierającego witaminy, minerały i dostarczającego włókno) może tworzyć dobrze zbalansowaną paszę dla zwierząt, a także rozwiązuje dwa problemy związane z usuwaniem. Suchy produkt zawiera 40% protein, 5% tłuszczu i 12% wilgoci. Ta wysuszona mieszanina krwi i odchodów żwaczy jest dobrym pokarmem dla kurczaków i świń jako część zastępcza mączki mięsnej i/ lub mączki sojowej [1].

Węgiel zwierzęcy z krwi jest wykorzystywany do absorpcji gazów, jako przemysłowy środek odbarwiający i jako antidotum na chemiczne zatrucia. Związki pianowe krwi są wykorzystywane w gaszeniu ognia. Ich funkcja polega na ochronie powierzchni przed gorącym, powstrzymywanie tworzenia się oparów, chłodzenie wody, z którą piana jest podawana i ograniczenie dostarczania tlenu do ognia. Są szczególnie użyteczne do gaszenia pożarów łatwopalnych cieczy, takich jak węglowodory np. benzyna, oleje, farby, tłuszcze, nafta (niskowrzące frakcje ropy naftowej) [2].

## 5. Wnioski

Krew jest płynną tkanką łączną, pełniącą bardzo ważne funkcje w organizmie. Najważniejszymi składnikami organicznymi krwi są białka. Oprócz białek, osocze krwi zawiera również inne składniki organiczne: węglowodany; lipidy; produkty metabolizmu białek i metabolizmu hemu. Składniki te są istotne dla prawidłowego przebiegu procesów chemicznych, zachodzących w organizmie.

Jednym z głównych sposobów przerobu krwi jest jej frakcjonowanie na plazmę oraz hemoglobinę. Krew zwierząt rzeźnych jest jednym z najcenniejszych ubocznych surowców i potencjalnie najłatwiejszym do wykorzystania. O przydatności użytkowej krwi decyduje praktycznie zawartość łatwo strawnych białek, które powinny stanowić składnik żywności człowieka, a gdy jest to niemożliwe – składnik paszowy.

## Literatura

- [1] *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 6th Edition, Wiley-VCH, 2002.
- [2] Eckermann W., Hansen C.L., *Animal by-product processing & utilization*, CRC Press LLC, Boca Raton, Florida 2000.
- [3] Witeska M. Krew, Siedlce 2000, (praca niepublikowana).
- [4] Materiały informacyjne firmy Westfalia (<http://www.westfalia.com>).
- [5] Materiały informacyjne firmy Flavourtech (<http://www.flavourtech.com>).
- [6] Torres M.R., Marin F.R., Ramos A.J., Soriano E., *Study of operating conditions in concentration of chicken blood plasma proteins by ultrafiltration*, Journal of Food Engineering, 2002, 54, 215-219.

- [7] Moure F., Rendueles M., Diaz M., *Coupling process for plasma protein fractionation using ethanol precipitation and ion exchange chromatography*, Meat Science, 2003, 64, 391-398.
- [8] Dailoux S., Djelveh G., Peyron A., Oulion C., *Rheological behaviour of blood plasmas concentrated by ultrafiltration and by evaporation in relation to liquid-gel transition temperature*, Journal of Food Engineering, 2002, 55, 35-39.
- [9] Chang Y.C., Hwang L.S., Chang H.M., *Effect of calcium and thrombin on the turbidity changes and the gelation properties of swine plasma*, Food Research International, 1999, 32, 553-558.
- [10] PN-64/A-85701 Krew zwierząt rzeźnych i jej pochodne.
- [11] Toldra M., Elias A., Pares D., Saguero E., Carretero C., *Functional properties of a spray-dried porcine red blood cell fraction treated by high hydrostatic pressure*, Food Chemistry, 2004, 88, 461-468.
- [12] Materiały informacyjne firmy Niro Inc. ([www.niroinc.com](http://www.niroinc.com)).
- [13] Klamecki G., *Suszone rozpyłowo krwinki czerwone*, Sosnowiec 2005 (praca niepublikowana).
- [14] PN-83/A-82054 Mięso i przetwory mięsne. Badania bakteriologiczne.
- [15] Silva Viviane D.M., Silvestre Marialice P. C., *Functional properties of bovine blood plasma intended for use as a functional ingredient in human food*, Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 2003, 36, 709-718.
- [16] Bajcer T., Klatka M., *Radiacyjne metody utrwalania żywności*, Sosnowiec, Luty 2005 (praca niepublikowana).
- [17] Jankowska P., Lenik E., *Zatężanie i odbarwianie plazmy na drodze ultrafiltracji*, Sosnowiec, Luty 2006 (praca niepublikowana).
- [18] Cholewa J., Huras K., Prorok W., Balisz J., Klatka M., Bajcer T., Klamecka A., Klamecki G., *Założenia technologiczne dla produkcji plazmy metodą wirowania krwi*, Sosnowiec, Wrzesień 2004 (praca niepublikowana).