

(19)



URZĄD  
PATENTOWY  
RZECZYPOSPOLITEJ  
POLSKIEJ

(10) **PL 242700 B1**

(12)

## Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **434232**

(22) Data zgłoszenia: **2020.06.05**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2021.12.06 BUP 36/2021**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2023.04.11 WUP 15/2023**

(51) MKP:

**A01C 1/06** (2006.01)

**A01N 25/26** (2006.01)

**A01P 21/00** (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

**SIEĆ BADAWCZA ŁUKASIEWICZ – ŁÓDZKI  
INSTYTUT TECHNOLOGICZNY, Łódź, PL  
INSTYTUT UPRAWY NAWOŻENIA  
I GLEBOZNAWSTWA – PAŃSTWOWY  
INSTYTUT BADAWCZY, Puławy, PL  
NAUKOWO BADAWCZE CENTRUM ROZWOJU  
SOI AGESOYA SPÓŁKA Z OGRANICZONĄ  
ODPOWIEDZIALNOŚCIĄ, Huta Krzeszowska, PL  
UNIWERSYTET RZESZOWSKI, Rzeszów, PL**

(72) Twórca(-y) wynalazku:

**JUSTYNA WIETECZA, Łódź, PL  
MARIA WIŚNIEWSKA-WRONA, Łódź, PL  
EWA KOPANIA, Głowno, PL  
RUSLAN MONICH, Huta Krzeszowska, PL  
MAGDALENA SKÓRKA, Zaleszany, PL**

(54) Tytuł:

**Sposób wytwarzania otoczki ochronnej na nasionach soi**

**PL 242700 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania otoczki ochronnej na nasionach soi, zwłaszcza dla ochrony nasion soi przed niekorzystnymi warunkami atmosferycznymi.

Znanych jest wiele sposobów otoczkowania nasion soi mających na celu ochronę materiału biologicznego przed negatywnymi skutkami bezpośredniego kontaktu ze środowiskiem zewnętrznym oraz podniesienie wytrzymałości nasion na suszę i zwiększenie ich siły kiełkowania. Stosuje się w tym celu m.in. kompozycje zapobiegające erozji i zanieczyszczeniu gleby.

Z opisu zgłoszenia patentowego US 2013338003 znane jest stosowanie różnych źródeł cukru do wytwarzania biopolimerów przez *Rhizobium tropici* o zróżnicowanych relatywnościach chemicznych i grupach funkcyjnych. Biopolimery te zastosowano do nawożenia przy początkowym sadzeniu roślin. W szóstym tygodniu po posadzeniu ziaren soi, analiza jakościowa wykazała, że ziarna na obszarze poddanym nawożeniu były w przybliżeniu dwa razy większe niż ziarna na poletkach nie poddanych nawożeniu.

Z opisu patentowego US 5994265A znane są kompozycje powlekające, w których zasadniczymi elementami otoczki powlekającej są molibden i składnik zawierający siarkę, które poprawiają wydajność nasion i sadzonek. W okresie kiełkowania roślin strączkowych powłoka nasienna służy jako powłoka ochronna dla nasion w niekorzystnych warunkach wzrostu, takich jak ekstremalne temperatury i wilgotności.

Z dokumentu CN 106561104 znana jest metoda wstępnej obróbki nasion soi przed wysiewem, która obejmuje następujące etapy: płukanie ultradźwiękami, działanie pola elektrycznego, suszenie, napromieniowanie ultrafioletem oraz utworzenie warstwy powlekającej. Metoda ta umożliwia aktywację mechanizmu wzrostu komórek embrionalnych nasion, eliminację bakterii i wirusów przyczepionych do powierzchni nasion, zwiększenie odporności na choroby i szkodniki w okresie wzrostu nasion, zwiększenie zdolności wiązania azotu, fotosyntezę upraw oraz zwiększenie plonu nasion soi.

Z dokumentu CN 107549180 znany jest przyjazny dla środowiska środek do powlekania nasion soi, wytwarzany na bazie mleczanu chitozanu i biologicznego środka bakteriostatycznego. Środek ten nie zawiera szkodliwego składnika pestycydowego, jest biodegradowalny, a produkty jego rozkładu nie zanieczyszczają środowiska. Ma dobre działanie bakteriostatyczne i wykazuje pozytywny wpływ na plon nasion soi.

Z dokumentów CN 107549189 i CN 107372556 znane jest zastosowanie do powlekania nasion zawiesiny zawierającej składniki czynne, takie jak: abamektyna, piraklostrobina, iprodion, amino-oligosacharynę i tiametoksam.

Z dokumentu CN 106631410 znane jest zastosowanie otoczki na nasiona soi z odchodów zwierzęcych, mączki z muszli krewetkowej, kwasu salicylowego, soli pierwiastków śladowych, substancji odżywczych, oleju kamforowego, mosiądzu, amino-oligosacharyny, eteru polioksyetylenoalkilowego, środków zatrzymujących wodę, środków sterylizujących i regulatorów wzrostu roślin. Zawarte w otoczce składniki odżywcze zwiększały siły kiełkowania i wzrostu nasion soi.

Z dokumentu 105622239 znany jest środek powlekający do nasion soi zawierający w składzie rozdrobniony obornik krwi, sproszkowane skorupy z krewetek, brassinolid, kwas salicylowy, metylocelulozę, środek zatrzymujący wodę, środek błonotwórczy i środek bakteriobójczy. Po zastosowaniu otoczki o tym składzie zaobserwowano zwiększoną szybkość kiełkowania i prędkość wschodzenia nasion soi oraz tempo wzrostu siewek. Środek zatrzymujący wodę może utrzymać wilgoć potrzebną do kiełkowania, przez co znacznie polepsza szybkość kiełkowania nasion oraz wykazuje efekt bakteriobójczy. Posiada bowiem pewien systematyczny efekt osmozy, wykazuje dodatkowo długi czas działania, co wpływa na znaczny wzrost wydajności oraz chroni przed insektami.

Z dokumentu CN108991004 znany jest złożony środek do powlekania nasion oraz sposób jego przygotowania i zastosowania. Środek ten składa się z czynnika A i czynnika B. Czynniki A i B zawiera 15–25 części tiametoksamu, 2–5 części fludioksonilu i 5–10 części metalaksylu-M, a czynnik B zawiera jako składnik aktywny 10–20 części kwasu salicylowego. Środek ten poprawia szybkość kiełkowania i szybkość wschodzenia nasion bawełny w warunkach niskiej temperatury, a także pełni funkcję wspomagającą wzrost roślin i zwiększającą odporność nasion bawełny na niskie temperatury oraz zwiększa odporność bawełny na szkodniki i choroby w fazie kiełkowania i sadzenia.

Dokument EP 1078563 ujawnia kompozycję do powlekania nasion, złożoną z co najmniej jednego polimeru posiadającego Tg od -60°C do 20°C, pod warunkiem że Tg polimeru jest mniejsze lub

równe temperaturze powierzchni nasion w czasie stosowania. Składnikiem otoczki jest kopolimer otrzymany w procesie polimeryzacji monomerów, gdzie etylenowo nienasycony monomer jest wybrany z grupy składającej się z estrów winylowych, alfa-olefin, bezwodników, estrów alkilowych kwasu akrylowego i metakrylowego, podstawionych lub niepodstawionych mono- i dialkilowych estrów nienasyconych kwasów dikarboksylowych, aromatycznych kwasów winylowych, niepodstawionych lub podstawionych akryloamidów, cyklicznych monomerów, monomerów zawierających alkoksylowane łańcuchy boczne, sulfonowanych monomerów, monomerów amidku winylu oraz ich kombinacji.

Z dokumentu CN 109221130 znany jest biologiczny środek z dodatkiem chityny do powlekania nasion, ulegający rozkładowi, oraz metoda jego przygotowania. Powłokę stanowi naturalna, wolna od zanieczyszczeń chityna jako warstwa tworząca główny korpus; substancje jak np. poliwinilopirolidon i tym podobne są dobrane tak, aby osiągnąć dobrą wydajność tworzenia warstwy. Warstwa ochronna może być stosowana jako nośnik elementów odżywczych, substancji sterylizujących i substancji zabijających owady. Warstwa ta może skutecznie poprawić wydajność upraw odpornych na choroby, może wspierać kiełkowanie, wzrost nasion i naturalnie ulegać degradacji wraz z kiełkowaniem i wzrostem nasion. Po degradacji środek powlekający nasiona może być stosowany jako nawóz do przyswajania przez rośliny.

Większość znanych metod agrotechnicznego otoczkowania nasion ma na celu poprawę efektu kiełkowania nasion oraz dobre działanie zapobiegające chorobom powodowanym przez zasiedlającą glebę patogeny grzybowe.

Celem wynalazku było opracowanie sposobu wytwarzania otoczki ochronnej dla nasion soi, który zapewnia nasionom ochronę przed niekorzystnymi warunkami atmosferycznymi.

Sposób wytwarzania otoczki ochronnej na nasionach soi według wynalazku polega na tym, że nasiona soi poddaje się otoczkowaniu nanosząc najpierw roztwór chitozanu o średniej masie cząsteczkowej  $\bar{M}_v = 80\text{--}360$  kDa i stopniu deacetylacji SD = 65–95%, w postaci soli mleczanu lub octanu, o pH = 6,2–6,7. Następnie po wysuszeniu naniesionej warstwy w temperaturze 30–35°C, nanosi się drugą zewnętrzną warstwę otoczki, którą stanowi alginian w postaci soli sodowej lub roztwór metylocelulozy i karboksymetylocelulozy o średniej masie cząsteczkowej  $\bar{M}_v = 80\text{--}110$  kDa. Wytworzoną otoczkę suszy się w temperaturze 30–35°C.

Stosowany roztwór chitozanu zawiera jony wapnia, korzystnie w postaci chlorku wapnia, a także otręby pszenne, żytnie, jęczmienne lub owsiane.

Według wynalazku zewnętrzna warstwa otoczki może zawierać dodatkowo substancję funkcjonalną o temperaturze topnienia 5–18°C, jak olej jojoba lub mieszanki poliglikolu etylenowego PEG 400 i PEG 600 w zmiennych proporcjach, o temperaturach topnienia gwarantujących odmienne zachowanie kompleksu w temperaturze 4 i 18°C.

Według wynalazku korzystne jest, aby obie warstwy otoczki zawierały substancje poprawiające elastyczność wytworzonej na powierzchni nasion otoczki, takie jak polialkohol winylowy, glicerol czy poliglikol etylenowy PEG 4000.

W sposobie według wynalazku w celu otrzymania otoczek nasion z polimerów naturalnych, które nie będą ulegały rozpuszczeniu natychmiast po kontakcie z wodą, zastosowano otoczki dwuwarstwowe, gdzie bazą warstwy pierwszej jest chitozan, zaś bazą warstwy drugiej alginian lub pochodne celulozy. Dzięki temu otrzymano kompleks polielektrolitowy chitozan/alginian lub chitozan/pochodne celulozy, sieciowany dodatkowo jonami dwuwartościowymi. Powstawanie kompleksu chitozan/alginian oraz chitozan/pochodne celulozy możliwe jest dzięki tworzeniu się wiązań jonowych  $\sim\text{NH}_3^+ \dots \text{O}(\text{O})\text{C}\sim$  pomiędzy grupami funkcyjnymi dodatnio naładowanego chitozanu (polikation) oraz ujemnie naładowanego alginianu lub pochodnej celulozy (polianion).

Zastosowanie w dwuwarstwowej otoczce według wynalazku kompozycji polimerowych na bazie polisacharydów sprawia, że oprócz ochrony nasion soi przed niekorzystnymi warunkami atmosferycznymi, otoczka stymuluje także kiełkowanie nasion w warunkach korzystnych. Istotną zaletą wynalazku jest uzyskanie trwałej otoczki o jednakowej grubości, co decyduje w dużym stopniu o skuteczności jej działania. Grubość takiej otoczki jest kontrolowana przede wszystkim poprzez odpowiedni dobór parametrów fizyko-chemicznych polimerów naturalnych tworzących otoczkę. Nie bez znaczenia dla wynalazku jest również to, że można dodatkowo do kompozycji tworzących dwuwarstwową otoczkę wprowadzać nie tylko substancje funkcjonalne, ale również środki pomocnicze, plastyfikatory: alkohol poliwinylowy, poliglikol etylenowy (PEG 4000), chlorek wapnia oraz bezwodną glicerynę. W przypadku wprowadzenia do kompozycji wosków, olejów, przygotowuje się emulsje typu olej w wodzie z wykorzystaniem

naturalnych surfaktantów o odpowiedniej wartości HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance) takich jak: Oliwian Cetearylu, Oliwian Sorbitanu (HLB =9), Monooleinian polioksyetyleno-80-sorbitanu (HLB = 15,0) oraz Laurat Sorbitanu (HLP=11).

Przedmiot wynalazku został przedstawiony w poniższych przykładach wykonania.

#### Przykład I

Etap 1. Przygotowanie roztworu na warstwę wewnętrzną otoczki.

Przygotowano 1% wag. roztwór chitozanu o średniej masie cząsteczkowej i  $\bar{M}_v = 120$  kDa i stopniu deacetylacji SD = 79–80%, w 0,45% wag. kwasie mlekowym, do którego stopniowo dodawano wodny roztwór wodorotlenku potasu o stężeniu 3% wag. do uzyskania pH mieszaniny polimerowej 6,5. Końcowa zawartość chitozanu w matrycy polimerowej wynosiła 0,97% wag. Do matrycy polimerowej (chitozanowej) dodawano roztwór chlorku wapnia do uzyskania stężenia 0,2% wag. Następnie do matrycy chitozanowej dozowano stopniowo roztwory alkoholu poliwinylowego (PVA) o stężeniu 4% wag. i poliglikolu etylenowego (PEG 4000) o stężeniu 20% wag. tak, aby ostateczny skład kompozycji polimerowej stanowiącej pierwszą wewnętrzną warstwę otoczki wynosił 80:10:10 (% wag. suchej masy). Lepkość dynamiczna wytworzonej kompozycji polimerowej, oznaczona lepkościomierzem cyfrowym Brookfielda, wynosiła 35 mPa s.

Etap 2. Przygotowanie roztworu na warstwę zewnętrzną otoczki.

Do wodnego roztworu alginianu sodowego Manucol DH o stężeniu 1,0% wag. dodano mieszaninę poliglikolu etylenowego PEG 400 i PEG 600. Ostateczny skład kompozycji polimerowej na drugą zewnętrzną warstwę otoczki wynosił 80:10:10 (% wag. suchej masy). Lepkość dynamiczna kompozycji polimerowej oznaczona lepkościomierzem cyfrowym Brookfielda wynosiła 36 mPa s.

Etap 3. Otoczkowanie nasion

Na każde 100 g nasion soi najpierw naniesiono metodą natryskową 50 g roztworu tworzącego wewnętrzną warstwę otoczki. Następnie nasiona suszono w temperaturze 30–35°C, po czym na wysuszoną wewnętrzną warstwę otoczki naniesiono również metodą natryskową 20 g roztworu przygotowanego w etapie 2 i tak otoczkowane nasiona suszono w temperaturze 30–35°C.

Etap 4. Oznaczanie siły kiełkowania nasion

Oznaczono siłę kiełkowania nasion przechowywanych wstępnie w niekorzystnych warunkach środowiska. W tym celu przygotowywano sterylne szalki o średnicy wewnętrznej 15 cm, wyłożone dwiema warstwami bibuły filtracyjnej. Do każdej szalki wysiewano po 30 nasion soi – równolegle nasiona otoczkowane oraz nieotoczkowane jako kontrolę. Każdą próbę przygotowywano w trzech powtórzeniach. Próby inkubowano przez 5 dni w cieplarni o temp. 4°C, następnie 7 dni w komorze klimatycznej o temp. 19°C i wilgotności 60%. Jednorazowo podlewano próbkę wodą w ilości 5 ml. Podczas inkubacji w cieplarni w temp. 4°C próby podlewano 15 ml wody, a w komorze klimatycznej w temp. 19°C i wilgotności 60% próby podlewano także 15 ml wody. Całkowita ilość dodanej wody to 30 ml. Po zakończonej inkubacji oznaczano procent skiełkowanych nasion korzystając z wzoru:

siła kiełkowania = (liczba nasion, które wykiełkowały/ogólna liczba nasion) x 100%

Siła kiełkowania nasion nieotoczkowanych wynosiła 45%, zaś otoczkowanych – 80%.

#### Przykład II

Etap 1. Przygotowanie roztworu na warstwę wewnętrzną otoczki.

Przygotowano 1% wag. roztwór chitozanu o średniej masie cząsteczkowej  $\bar{M}_v = 80$  kDa i stopniu deacetylacji SD = 80,0%, w 0,45% wag. kwasie mlekowym, do którego stopniowo dodawano wodny roztwór wodorotlenku potasu o stężeniu 3% wag. do uzyskania pH mieszaniny polimerowej 6,7. Końcowa zawartość chitozanu w matrycy polimerowej wynosiła 0,96% wag. Do matrycy polimerowej (chitozanowej) dodawano roztwór chlorku wapnia do uzyskania stężenia 0,2% wag. Następnie do matrycy chitozanowej dozowano stopniowo roztwory alkoholu poliwinylowego (PVA) o stężeniu 4% wag. i poliglikolu etylenowego (PEG 4000) o stężeniu 20% wag. tak, aby ostateczny skład kompozycji polimerowej stanowiącej pierwszą wewnętrzną warstwę otoczki wynosił 80:10:10 (% wag. suchej masy). Lepkość dynamiczna wytworzonej kompozycji polimerowej, oznaczona lepkościomierzem cyfrowym Brookfielda, wynosiła 33 mPa s.

Etap 2. Przygotowanie roztworu na warstwę zewnętrzną otoczki.

Do wodnego roztworu alginianu sodowego Manucol DH o stężeniu 1% wag. dodano roztwór alkoholu poliwinylowego (PVA) o stężeniu 4% wag. i poliglikol etylenowy PEG4000 o stężeniu 20%

wag. Roztwory mieszano w proporcji 10:0,5:0,05. Równolegle przygotowywano mieszkankę olej jojoba : Oliwian Cetearylu (detergent) w proporcji 4:1, którą podgrzano do temp. 60°C. Roztwór alginianu podgrzewano do temperatury 50°C, po czym do roztworu dodawano przygotowaną mieszkankę w proporcji 100 g roztworu : 2 g mieszkanki. Całość homogenizowano do otrzymania jednolitej emulsji. Lepkość dynamiczna kompozycji polimerowej oznaczona lepkościomierzem cyfrowym Brookfielda wynosiła 36 mPa s.

Etap 3. Otoczkowanie nasion

Nasiona soi otoczkowano jak w przykładzie I.

Etap 4. Oznaczanie siły kiełkowania nasion

Siłę kiełkowania oznaczano jak w przykładzie I.

Siła kiełkowania nasion nieotoczkowanych wynosiła 45%, zaś otoczkowanych – 85%.

Przykład III

Etap 1. Przygotowanie roztworu na warstwę wewnętrzną otoczki.

Roztwór do wytworzenia wewnętrznej warstwy otoczki przygotowany jak w przykładzie I.

Etap 2. Przygotowanie roztworu na warstwę zewnętrzną otoczki.

Do wodnego roztworu soli sodowej karb. oksym. etylocelulozy (CMC) o średniej masie cząsteczkowej  $\bar{M}_v = 90,0$  kDa, o stężeniu 2% wag., dozowano stopniowo przygotowany roztwór PEG 4000 o stężeniu 10% wag. i roztwór alkoholu poliwinylowego PVA o stężeniu 4% wag. Ostateczny skład kompozycji polimerowej stanowiącej drugą warstwę otoczki wynosił 80:10:10 (% wag.). Lepkość dynamiczna kompozycji polimerowej i oznaczona lepkościomierzem cyfrowym Brookfielda, wynosiła 46 mPa s.

Etap 3. Otoczkowanie przeprowadzono jak w przykładzie I.

Etap 4. Siłę kiełkowania oznaczano jak w przykładzie I.

Siła kiełkowania nasion nieotoczkowanych wynosiła 45%, natomiast nasion otoczkowanych – 78%.

## Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania otoczki ochronnej na nasionach soi, **znamienny tym**, że nasiona soi poddaje się otoczkowaniu nanosząc najpierw roztwór chitozanu o średniej masie cząsteczkowej  $\bar{M}_v = 80\text{--}360$  kDa i stopniu deacetylacji SD = 65–95%, w postaci soli mleczanu lub octanu, o pH = 6,2–6,7, następnie po wysuszeniu naniesionej warstwy w temperaturze 30–35°C, nanosi się drugą zewnętrzną warstwę otoczki, którą stanowi alginian w postaci soli sodowej lub roztwór metylocelulozy i karboksymetylocelulozy o średniej masie cząsteczkowej  $\bar{M}_v = 80\text{--}110$  kDa, po czym wytworzoną otoczkę suszy się w temperaturze 30–35°C.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosuje się roztwór chitozanu zawierający jony wapnia, korzystnie w postaci chlorku wapnia.
3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że nanosi się zewnętrzną warstwę otoczki zawierającą substancję funkcjonalną o temperaturze topnienia 5–18°C, jak olej jojoba lub mieszkanki poliglikolu etylenowego PEG 400 i PEG 600 w zmiennych proporcjach.
4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosuje się roztwór chitozanu zawierający otręby pszenne, żytnie, jęczmienne lub owsiane.
5. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że nanosi się obie warstwy otoczki, które zawierają dodatkowo substancje poprawiające elastyczność, jak polialkohol winylowy, glicerol czy poliglikol etylenowy PEG 4000.