



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 30.07.74 (P. 173110)

Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 28.02.76

Opis patentowy opublikowano: 31.12.1977

MKP A61L 13/00

Int. Cl.²
A61L 13/00

CZYTELNIA

Urząd Patentowy
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

Twórcy wynalazku: Witold Zieliński, Jerzy Morstin, Andrzej Pietraszek

Uprawniony z patentu: Polska Akademia Nauk Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt, Jastrzębiec (Polska)

Sposób wytwarzania rozcieńczalnika o przedłużonej ważności do konserwacji nasienia reproduktorów

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania rozcieńczalników do konserwowania nasienia reproduktorów, zwłaszcza buhajów, przy czym rozcieńczalniki stanowią gotowy preparat, nadający się do użytkowania w ciągu dłuższego czasu po wyprodukowaniu.

Znane są rozcieńczalniki, sporządzone przez zmieszanie roztworu buforowego z glicerolem, substancją białkową, cukrami i antybiotykami. Rozcieńczalniki te wytwarza się według ściśle określonej receptury bezpośrednio przed pobieraniem nasienia od reproduktorów. Każdorazowe sporządzanie rozcieńczalnika w zakładach unasieniania jest pracochłonne, a ponadto w przypadku niewykorzystania przygotowanego rozcieńczalnika w ciągu tego samego dnia, powoduje straty drogich składników i nakładów pracy. Nadmiary wynoszą zwykle około 25% ilości faktycznie potrzebnej, gdyż laboratoria zakładów unasieniania ze względów organizacyjnych, a przede wszystkim z uwagi na zabezpieczenie się przed niedoborami na dany dzień, bądź ewentualnymi pomyłkami recepturowymi, operują raczej prostymi wielokrotnościami dziesiętnymi.

Niedokładności recepturowe, bądź nieodpowiednia jakość użytych komponentów, powodują spadek żywotności plemników, co jest często przyczyną dyskwalifikacji ejakulatów, uzyskanych od cennych reproduktorów. W mniej drastycznych przypadkach, obniżona żywotność plemników staje

2

się przyczyną zwiększenia ilości przeprowadzanych zabiegów inseminacyjnych, a tym samym i wzrostu jakości samicy w obsługiwanym rejonie.

Znane są gotowe rozcieńczalniki, produkowane przez specjalistyczne firmy według własnych sposobów, stanowiących ściśle tajemnicę, ukazujące się w handlu pod różnymi nazwami, np. w Japonii „Seminal” lub „Neoseminal”, w RFN „Spermol”, we Francji „Laciphos”, a w Nowej Zelandii „Caprogen”. Chociaż te znane preparaty posiadają przedłużoną trwałość, jednak przed użyciem wymagają dodatkowych zabiegów laboratoryjnych, np. dodania ściśle określonej ilości wody i glicerolu lub wody i białka, np. żółtka jaja kurzego.

Celem wynalazku jest opracowanie sposobu wytwarzania gotowego rozcieńczalnika do konserwacji nasienia reproduktorów, zwłaszcza buhajów, charakteryzującego się przedłużoną ważnością, a jednocześnie nie wymagającego żadnych dodatkowych zabiegów laboratoryjnych bezpośrednio przed użyciem.

Stwierdzono, że cel ten uzyskuje się, jeżeli znane komponenty rozcieńczalnika, tj. roztwór buforowy, glicerol, cukry, antybiotyki i substancje białkowe miesza się w obecności emulgatorów niejonowych w temperaturze otoczenia, a po uzyskaniu homogennej masy poddaje się ją dwukrotnej niskiej pasteryzacji z przerwą, zapewniającą ewen-

tualne wykiełkowanie pozostałych jeszcze przetrawiających form mikroflory.

Według wynalazku jako emulgatory niejonowe stosuje się zwłaszcza bipolarnie, niejonowe substancje powierzchniowo-czynne, takie jak estry wyższych kwasów tłuszczowych sorbitanu lub estry wyższych kwasów tłuszczowych z trójeterem polioksyetylenowym sorbitanu, bądź monopolarne (koloidy liofilowe) substancje powierzchniowo-czynne, zwłaszcza pochodzenia zwierzęcego, zwłaszcza lecytyna, cholesteryna.

W skład rozcieńczalników wchodzi roztwór buforowy, który stanowi wodny roztwór soli kwasów organicznych, np. cytrynianów.

Jako cukry w skład rozcieńczalnika, otrzymywanego według wynalazku, mogą wchodzić znane i używane do tego celu cukry takie, jak fruktoza, glukoza, laktoza bądź inne.

Jako substancję białkową stosuje się zazwyczaj żółtko jaja kurzego, lecz można też stosować białka mleka lub inne znane białka.

Sposób według wynalazku umożliwia otrzymywanie gotowego preparatu, stanowiącego rozcieńczalnik, nadający się do konserwacji nasienia reproductorów zarówno w stanie płynnym, jak też w niskich temperaturach.

Sposób według wynalazku pozwala na centralne wytwarzanie dużych partii rozcieńczalnika pod ścisłym nadzorem fachowym i przeprowadzenie testów kontrolnych. Zakłady unasieniania zwierząt, stosując gotowe rozcieńczalniki, zostają odciążone od prac laboratoryjnych, koncentrując się na właściwych zagadnieniach hodowlano-organizacyjnych. Zastosowanie wystandaryzowanych, sprawdzonych rozcieńczalników, pozwoli na zwiększenie efektów biologicznych inseminacji.

Rozcieńczalnik, utrwalony sposobem według wynalazku, zachowuje swą ważność w temperaturze pokojowej, lecz w zaciemnieniu, przez okres co najmniej 100 dni. Może być przechowywany we flakonach typu tzw. plazmówek, tj. butelkach zamkniętych płaskimi gumowymi korkami i metalowymi nakrętkami, przez które można pobierać strzykawką lekarską faktycznie potrzebną ilość

rozcieńczalnika. Flakon rozpoczęty, przy zachowaniu elementarnych zasad sterylności, może być przechowywany w zwykłej lodówce przez okres kilkunastu dni, aż do czasu całkowitego zużycia.

Przykład. Do 720 ml 2,9% roztworu dwuwodnego cytrynianu sodowego dodano 200 ml żółtek jaja kurzego, 80 ml glicerolu, 12,5 g fruktozy, 1 g streptomycyny oraz 0,45 ml estru kwasu olejowego z trójeterem sześcioksyetylenowym sorbitanu. Całość mieszano energicznie w temperaturze otoczenia w ciągu 5 minut. Zhomogenizowaną mieszaninę rozdzielono do flakonów o pojemności 250 ml. Następnie poddano pierwszej niskiej pasteryzacji po upływie 2 godzin od wymieszania składników z antybiotykiem, zaś drugą pasteryzację po upływie 24 godzin od wymieszania z antybiotykiem. Po pasteryzacji flakony z rozcieńczalnikiem gwałtownie chłodzono i przechowywano w temperaturze pokojowej w zaciemnieniu.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania rozcieńczalnika o przedłużonej ważności do konserwowania nasienia reproductorów, zwłaszcza buhajów, sporządzonego na bazie roztworu buforowego, glicerolu, cukrów, antybiotyków oraz substancji białkowych, **znamienny tym**, że roztwór buforowy, glicerol, cukry oraz antybiotyki miesza się w obecności emulgatorów niejonowych w temperaturze otoczenia, a po uzyskaniu homogennej masy poddaje się ją dwukrotnie niskiej pasteryzacji z przerwą, zapewniającą ewentualne wykiełkowanie przetrwalnikujących form mikroflory.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako emulgatory stosuje się substancje powierzchniowo-czynne, bipolarnie, niejonowe, takie jak estry wyższych kwasów tłuszczowych sorbitanu lub estry wyższych kwasów tłuszczowych z trójeterem polioksyetylenowym sorbitanu, bądź substancje powierzchniowo-czynne monopolarne (koloidy liofilowe), zwłaszcza pochodzenia zwierzęcego, zwłaszcza lecytyna lub cholesteryna.