



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

253 352

(11)

(B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 30 03 84
(21) PV 2403 - 84

(51) Int. Cl.⁴
A 23 K 1/22

(40) Zveřejněno 12 03 87
(45) Vydáno 01 01 89

(75)
Autor vynálezu

PÁR OLDŘICH RNDr., ing., CSc., OŘECHOV,
PŘIKRYL JAROSLAV ing., CSc., BRNO,
PÁROVÁ JANA ing., CSc., OŘECHOV,
JAKOBE PETR ing., CSc., POHOŘELICE

(54)

Způsob biotechnologické úpravy semen

Způsob biotechnologické úpravy semen za účelem zajištění zdravé racionální výživy je vhodný pro úpravu semen, která jsou používána ve výživě zvířat a lidí. Podstata biotechnologického způsobu úpravy semen spočívá ve vyvolání enzymatické aktivity semen, v úpravě enzymatické aktivity semen fermentací bakteriálními, kvasinkovými a houbovými kmeny mikroorganismů a v zastavení enzymatické aktivity, fermentace a ochrany produktu před rozkladnou činností mikroorganismů. Makrostrukturální změny v endospermu semen, kterých bylo dosud dosahováno mechanickými, tepelnými a jinými způsoby úprav, které jsou energeticky i investičně náročné, jsou při biotechnologickém způsobu úpravy semen dosaženy při minimalizaci nákladů na energii a investice. Při biotechnologickém způsobu úpravy semen dochází navíc k obohacení připravovaného produktu o bílkoviny, enzymy a další biologicky účinné látky, jejichž zdrojem je biomasa mikroorganismů. Tento způsob umožňuje rovněž dotaci dalších látek podle potřeb jednotlivých živočišných druhů. Semena upravená biotechnologickým způsobem jsou po doplnění nutričních a léčebně preventivních složek kompletním plnohodnotným krmivem.

Vynález se týká způsobu biotechnologické úpravy semen určených pro výživu ryb, ptáků a savců, za účelem zvýšení jejich stravitelnosti, zajištění zdravé a racionální výživy.

V zemědělské a potravinářské praxi jsou semena kulturních rostlin, obilovin a luštěnin upravována především fyzikálními metodami. Mechanickou homogenizací semen drcením, šrotováním a mletím se zvyšuje stravitelnost a nutriční využití, ale úpravy jsou energeticky náročné a skladovatelnost mechanicky upravených semen je značně omezená. Antinutriční látky obsažené v některých semenech luštěnin nejsou touto úpravou eliminovány. K dalším nevýhodám takto upravených semen patří velká prašnost jak při výrobě a distribuci, tak při samotném nutričním použití s negativním dopadem na zdraví zvířat a člověka. Například zárodky mikromycetů, které se nacházejí ve velkém množství v mechanicky upravených obilovinách, jsou původcem mykotických a alergických onemocnění.

Semena určená k lidské konzumaci jsou nejčastěji upravována tepelně jejich vařením. V poslední době je věnována zvýšená pozornost využití tepelně upravených semen i ve výživě hospodářských zvířat. Při úpravě jsou semena vystavována suchému nebo vlhkému teplu za normálního nebo zvýšeného tlaku. V semenech tak dochází k žádoucím strukturálním změnám, ke zvýšení stravitelnosti a k eliminaci antinutričních látek. Nevýhodou tepelné úpravy je značná energetická a investiční náročnost.

K biologickým metodám úpravy semen lze zařadit naklíčování semen obilovin, především pšenice a ječmene na lískách po jejich zkrápění vodou. Tento manuálně pracný postup úpravy semen byl používán v zemědělské malovýrobě především pro výživu drůbeže, případně také pro mláďata jiných druhů ^{domácích} zvířat. Vedle pozitivního vlivu naklíčených semen obilovin na zvýšení užitkovosti byly prokázány ztráty živin, vzniklé při naklíčování a také časté riziko znehodnocení semen houbovými mikroorganismy a jejich toxickými metabolity. Z těchto důvodů je tento způsob úpravy semen obilovin k výživě zvířat pro současnou zemědělskou praxi zcela nepoužitelný.

Uvedené nedostatky podstatně snižuje způsob biotechnologické úpravy semen podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že k semenům po proprání se přidá 0,05 až 0,07 % hmot. vztažených na hmotnost semen kyseliny giberelové, 1 % hmot. močoviny, semena se po dobu 48 až 72 hodin provzdušňují, potom se dezinfikují po dobu 2 až 6 hodin 0,2 a 0,3 % hmot., např. formaldehydem, kyselinou propionovou, kyselinou isomáselnou, kyselinou

ectovou, potom se přidá živný substrát v množství 5 až 10 % hmot., např. silážní šťáva, zcukřené bramborové škrabky a inokulum mikroorganismů, např. *Bacillus subtilis*, *Geotrichum candidum*, *Streptococcus faecium* a semena se fermentují při 14 až 30°C po dobu 24 až 96 hodin, potom se na semena působí 5 % hmot. hydroxidem sodným po dobu 120 hodin, upravená semena jsou konzumována celá nebo homogenizována, pro skladování se stabilizují 1,4 až 1,8 % kyselinou propionovou, kyselinou isomáseľnou, nebo se stabilizují odstraněním vody lisováním, tvarováním a zamrazením, pro kompletní krmiva se semena obohacují 0,05 až 0,5 % hmot. látkami ve vodě rozpustnými, např. chloridem sodným, zchutňujícími látkami, barvivy a 0,05 až 18 % hmot. látkami nerozpustnými, např. probiotickým přípravkem, doplňky biofaktorů, minerálními přísadami, rybí moučkou, kafilerním tukem, mletým vápencem, úsuškem vojtěšky, extrahovaným šrotem.

Hlavní výhody způsobu biotechnologické úpravy semen spočívají v tom, že požadované makrostrukturální změny endospermu semen, které pozitivně ovlivňují stravitelnost živin a jejich využití v trávicím traktu zvířat a lidí, jsou dosaženy při minimalizaci nákladů na energii a investice. Navíc při biotechnologickém způsobu úpravy semen dochází k obohacení připravovaného krmiva o bílkoviny, vitamíny, enzymatické, minerální a jiné látky (organické kyseliny, antioxidanty), které vznikají v procesu aktivace enzymů, embryogeneze a fermentace, přičemž dochází k eliminaci antinutričních látek, obsažených v semenech vickovitých rostlin.

Způsob biotechnologické úpravy semen umožňuje obohacení semen dalšími nutričně důležitými látkami podle potřeb jednotlivých živočišných druhů, pro které je krmivo určeno. Tyto látky-živiny, minerálie, mikrobiotika, léčiva, vitamíny, biologicky účinné látky a látky zchutňující, jsou buď jako rozpustné inkorporovány do semen ve vodním roztoku, nebo jako nerozpustné homogenně nanесeny na vlhký adhesivní povrch semen.

Způsobem biotechnologické úpravy semen lze podle potřeb jednotlivých živočišných druhů připravit plnohodnotná hygienicky nezávadná krmiva, obsahující živiny, vitamíny, minerálie a další biologicky účinné látky v optimálním poměru, což má velký význam např. u semenožravých ptáků (měkkozobí, kurovití, exotické ptactvo), u kterých dotace potřebných látek není jiným způsobem možná. Uvedeným způsobem upravená semena jsou jako krmivo vhodná především pro výživu mláďat určených k chovu, ale také dospělých chovných jedinců a také dospělců s minimálním výdajem energie.

Způsobem biotechnologické úpravy semen lze připravit krmiva s nízkou, vyšší a vysokou úrovní živin a také krmiva medikovaná. Možnost přípravy krmiv s nízkou úrovní živin při zachování fyziologicky optimálního příjmu umožňuje restrinkci živin v krmivu, zabráňuje nežádoucímu zvyšování hmotnosti a ukládání tukových látek při optimální dotaci minerálních látek a vitamínů.

Způsobem biotechnologické úpravy semen lze připravit krmiva, která svou skladbou, konzistencí a výživnou hodnotou vy-

hovují fyziologickým a zdravotně-hygienickým požadavkům různých druhů živočichů včetně člověka; chemickým konzervačním prostředkem lze záměrně ovlivnit fyzikálně-chemické podmínky v zažívacím ústrojí živočichů s přímým dopadem na stravitelnost a využití živin.

K základním faktorům, které ovlivňují proces aktivity enzymů, patří biologická hodnota semen, voda, teplota a kyslík. Potřeba vody pro semena obilovin je 40-60 % jejich hmotnosti; pro semena luskovin 90 až 120 %. Vhodná teplota prostředí v této fázi má velký význam, přičemž minimální a maximální teploty představují hraniční hodnoty, při kterých ještě aktivace enzymů probíhá. Důležitá je znalost především minimálních hodnot teploty, při kterých se v semenech začínají aktivovat enzymy (žito 1 až 2°C, pšenice, ječmen a oves 4 až 5°C, kukuřice a proso 10°C, bob a vikev 2 až 4°C, soja 6°C atd.). Za optimální teplotu pro aktivaci semen je možno považovat 24 až 28°C; dostatečný přívod kyslíku, který rovněž patří k limitujícím faktorům aktivace enzymů a zahájení embryogenese, zabezpečuje provzdušňování semen jejich promícháváním. V přítomnosti vody, kyslíku a tepla semena bobtnají, dochází k syntéze kyseliny ribonukleové, k uvolňování kyseliny gibberelové do aleuronu, kde se syntetizují hydrolasy, nukleasy a proteasy, které mobilizují rezervní látky v semenech. Aby nedocházelo ke ztrátám živin a energie jsou biochemické procesy po proražení klíčku embryí z osemení zastaveny chemickou konzervací, nebo odstraněním vody.

U výrazu %, pokud není uvedeno jinak se jedná o % hmotnostní.

Příklad 1

Semena pšenice a semena kukuřice, umístěná do bubnové míchačky samostatně, byla 1-krát proprána ve vodě o teplotě vody 30°C a potom v přítomnosti 50 % hmot. vody, vztažené na hmotnost semen, byla při teplotě 18 až 20°C po dobu 48 hodin přerušovaně míchána. Po proražení embryí z osemení byla semena ošetřena 0,2 % hmot. kyselinou propionovou po dobu 2 hodin, poté byla semena inokulována spórovou suspenzí lyofilizovaných zárodků *Streptococcus faecium* M-74 (20 g premixu Lactiferm) a fermentována při teplotě 18 až 20°C po dobu 24 hodin, po této době byla semena stabilizována 1,8 % hmot. kyseliny isomáselné vztažené na hmotnost semen.

Biotechnologicky upravenou pšenici bylo při krmení kapří násady dosaženo vyššího přírůstku hmotnosti v průměru o 20 % v porovnání s pšenicí neupravenou; při krmení upravenou kukuřicí bylo dosaženo o 22 % vyššího přírůstku hmotnosti kaprů v porovnání s přírůstkem kaprů, krmených kukuřicí neupravenou. Krmení kaprů biotechnologicky upravenými semeny pšenice a kukuřice snížilo spotřebu krmiva na 1 kg přírůstku hmotnosti v průměru o 20 % v porovnání se spotřebou při krmení semeny neupravenými.

Příklad 2

Semena pšenice a ječmene, umístěná společně v bubnové míchačce, byla 2-krát proprána ve vodě o teplotě 40°C a potom bylo přidáno 0,007 % hmot. kyseliny gibberelové, vztažené na hmotnost semen. V přítomnosti 50 % hmot. vody, vztažené na hmotnost semen, byla

semena při teplotě 14 až 16°C přerušovaně míchána po dobu 72 hodin. Po proražení embryí z osemení byla semena desinfikována 0,3 % hmotnosti semen kyseliny octové po dobu 6 hodin, poté bylo k semenům přidáno 5 % hmot. zcukřených bramborových škrabků a semena byla inokulována sporovou suspenzí lyofilizovaných zárodků *Bacillus subtilis* a fermentována při teplotě 14 až 16°C po dobu 48 hodin. Pak bylo přidáno 0,2 % hmot. krmné soli, 18 % extrahovaného šrotu, 1 % rybí moučky, 1 % kafilerního tuku, 1 % úsušky vojtěšky, 4 % mletého vápence, 3 % minerální krmné přísady pro drůbež a 0,2 % doplňku biofaktorů pro nosnice, všechno vztažené na hmotnost semen. Po zamíchání bylo krmivo granulováno a krmeno nosnicím v klecovém odchovu. Skupina nosnic, krmená krmivem připraveným způsobem biotechnologické úpravy semen, dosáhla o 7 % zvýšení produkce vaječné hmoty a o 4 % nižšího úbytku tělesné hmotnosti v porovnání se skupinou krmenou tvarovaným krmivem shodné receptury, ale semeny pouze šrotovanými. Příjem krmiva s upravenými semeny byl o 6 % vyšší, než příjem krmiva se semeny biotechnologicky neupravenými.

Příklad 3

Semena pšenice, ječmene a ovsa ve stejném hmotnostním poměru, umístěná v bubnové míchačce, byla 2-krát proprána ve vodě o teplotě 35°C, potom po přidání 1 % hmot. močoviny a 0,005 % hmot. kyseliny gibberelové vztažené na hmotnost semen, byla semena v přítomnosti 50 % hmot. vody vztažené na hmotnost semen při teplotě 22 až 25°C po dobu 72 hodin přerušovaně míchána. Po pro-

ražení embryí z osemení byla semena obohacena silážní šťávou, (konzervovanou 4 ml 38 % formaldehydem na 1 l šťávy) v množství 10 % hmot. a inokulována houbovým kmenem *Geotrichum candidum*. Semena byla fermentována za přerušovaného míchání při teplotě 22 až 25°C po dobu 96 hodin. Poté bylo na semena působeno hydroxidem sodným v množství 5 % hmot. po dobu 120 hodin. Potom byla semena obohacena 0,5 % krmné soli, 15 % sojového šrotu, 15 % úsuškem vojtěšky, 1 % dikalciumfosfátem, 1,5 % minerální krmné přísady pro přežvýkavce, 1 % doplňku biofaktorů pro přežvýkavce, vše v % hmot. a vztažené na výchozí hmotnost semen. Po zamíchání byla semena spolu s ostatními složkami stabilizována lisováním na válcovém lisu, zde působením tlaku na měkká a nabobtnalá semena došlo k proražení obalů semen a vyhřeznutí endospermu. Do vzniklých vložek s velkým povrchem se vlisovaly ostatní složky. Vyrobené krmivo bylo zkrmováno mladým plemenným býčkům jako doplňkové krmivo k siláži a senu. Skupina býčků krmená krmivem připraveným způsobem biotechnologické úpravy semen dosáhla ve srovnání se skupinou krmenou granulovanou směsí o stejném složení vyššího přírůstku hmotnosti v průměru o 14 %. Krmení býčků krmivem s upravenými semeny snížilo spotřebu krmiva na 1 kg přírůstku hmotnosti v průměru o 5 % v porovnání se spotřebou krmiva s neupravenými semeny. Sledováním zdraví a kondice zvířat prostřednictvím vybraných fyziologických ukazatelů měla skupina zvířat s příjmem krmiva s upravenými semeny výrazně příznivější hematologické a fyziologické ukazatele.

Příklad 4

253 352

Semena pšenice a lnu v množství 5 % hmotnosti semen pšenice, umístěná v bubnové míchačce, byla 4-krát proprána ve vodě o teplotě 27°C, potom v přítomnosti 50 % hmot. vody, vztažené na hmotnost semen, byla při teplotě 22 až 25°C po dobu 48 hodin přerušovaně míchána. Po proražení embryí z osemení byla semena desinfikována 0,2 % hmot. kyseliny isomáselné po dobu 4 hodin, poté byla semena inokulována sporovou suspenzí lyofilizovaných zárodků *Bacillus subtilis* a fermentována při teplotě 30°C po dobu 24 hodin. K semenům bylo přidáno 0,05 % hmot. chuťové esence a 0,1 % hmot. potravinářského barviva. Potom byla semena stabilizována 1,4 % hmot. kyseliny propionové. Pak byla semena obohacena 0,5 % hmot. minerální přísady pro drůbež, 0,3 % hmot. doplňku biofaktorů pro drůbež, 0,05 % hmot. probiotického přípravku Lactiferm. Uvedené krmivo s nízkou úrovní živin bylo zkrmováno papouškům, andulkám vlnkovaným chovaným v klecích. Po celé jednoleté období zkrmování nebyly pozorovány žádné zdravotní poruchy.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

253 352

Způsob biotechnologické úpravy semen pro výživu živočichů jejich propráním a zvlhčením, vyznačující se tím, že po proprání se přidá k semenům 0,05 až 0,07 % hmot. kyseliny giberelové, 1 % hmot. močoviny, semena se po dobu 48 až 72 hodin provzdušňují, potom se desinfikují po dobu 2 až 6 hodin 0,2 a 0,3 % hmot. desinfekčním prostředkem, např. formaldehydem, kyselinou propionovou, kyselinou isomáselnou, kyselinou octovou, potom se přidá v množství 5 až 10 % hmot. živný substrát, např. silážní šťáva, zcukřené bramborové škrabky a inokulum mikroorganismů, např. *Bacillus subtilis*, *Geotrichum candidum*, *Streptococcus faecium* a semena se fermentují při 14 až 30°C po dobu 24 až 96 hodin, potom se na semena působí 5 % hmot. hydroxidem sodným po dobu 120 hodin a upravený produkt se popřípadě stabilizuje 1,4 až 1,8 % kyselinou propionovou, kyselinou isomáselnou, nebo se stabilizuje odstraněním vody lisováním, tvarováním a zamrazením, nebo se obohacuje 0,05 až 0,5 % hmot. látkami ve vodě rozpustnými, např. chloridem sodným, zchutňujícími látkami, barvivy a 0,05 až 18 % hmot. látkami nerozpustnými, např. probiotickým přípravkem, doplňky biofaktorů, minerálními přísadami, rybí moučkou, kafilerním tukem, mletým vápencem, úsuškem vojtěšky, extrahovaným šrotem, přičemž veškerá % hmot. jsou vztažena na hmotnost semen.