

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10)

PL 242643 B1

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **429794**

(22) Data zgłoszenia: **2019.04.29**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2020.11.02 BUP 23/2020**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2023.04.03 WUP 14/2023**

(51) MKP:

A23K 10/12 (2016.01)

A23K 10/14 (2016.01)

A23K 10/18 (2016.01)

A23K 10/30 (2016.01)

A23K 30/18 (2016.01)

A23K 50/75 (2016.01)

C12N 1/20 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

UNIwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,
Poznań, PL

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski

w Olsztynie, Olsztyn, PL

Szkoła Główna Gospodarstwa

Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, PL

Instytut Zootechniki Państwowy

Instytut Badawczy, Kraków, PL

Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt

Polskiej Akademii Nauk, Magdalenka, PL

Herberry Spółka z ograniczoną

odpowiedzialnością, Stawiguda, PL

DSM Nutritional Products Spółka

z ograniczoną odpowiedzialnością,

Mszczonów, PL

Centrum Badań DNA Spółka

z ograniczoną odpowiedzialnością,

Poznań, PL

Piast Pasze Spółka z ograniczoną

odpowiedzialnością, Lewkowice, PL

Piast Pasze II Spółka z ograniczoną

odpowiedzialnością, Płońsk, PL

(72) Twórca(-y) wynalazku:

DAMIAN JÓZEFIAK, Robakowo, PL

ANITA ZAWORSKA-ZAKRZEWSKA, Solec, PL

MAŁGORZATA KASPROWICZ-POTOCKA,

Poznań, PL

ADAM CIEŚLAK, Przeźmierowo, PL

MAŁGORZATA SZUMACHER, Kiekrz, PL

JAN JANKOWSKI, Olsztyn, PL

EWA SAWOSZ-CHWALIBÓG, Zgorzeła, PL

SYLWESTER ŚWIĄTKIEWICZ, Kraków, PL

ANNA ARCZEWSKA-WŁOSEK, Kraków, PL

ARTUR JÓŻWIK, Grójec, PL

(74) Pełnomocnik:

Bartłomiej Fijałkowski, Łódź, PL

(54) Tytuł:

Sposób uszlachetniania śruty rzepakowej poprzez zastosowanie procesu wglębnej fermentacji z zastosowaniem enzymów i bakterii jako sposób na redukcję oligosacharydów z rodziny rafinozy

PL 242643 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób uszlachetniania śruty rzepakowej poprzez zastosowanie procesu węgłnej fermentacji w celu redukcji oligosacharydów z rodziny rafinozy w materiale przeznaczonym do wykorzystania w żywieniu zwierząt monogastrycznych, zwłaszcza drobiu, w szczególności kurcząt brojlerów i indyków.

Obecnie coraz większy nacisk kładzie się na wycofanie z żywienia zwierząt gospodarskich pasz pochodzących z upraw z udziałem GMO, poszukuje się alternatywnych komponentów białkowych, które mogłyby zastąpić poekstrakcyjną śrutę sojową. Na taki stan ma również wpływ koszt oraz dostępność śruty sojowej. Ulega ona szybkim zmianom, co związane jest m.in. z fluktuacją na rynku globalnym (Florou-Paneri i in., 2014). Bardzo ważnym zagadnieniem jest zapewnienie Polsce tzw. bezpieczeństwa białkowego w sytuacji gdy ok. 75% białka paszowego jest importowane. Istotnym jest fakt, że Polska w ostatnich latach jest potentatem w produkcji rzepaku. (Rękas i in., 2016). Pasze rzepakowe zwane produktami ubocznymi uzyskanymi w wyniku pozyskiwania oleju do których należą poekstrakcyjna śruta rzepakowa, makuchy, wytloki i ekspelery rzepakowe charakteryzują się wysoką wartością pokarmową. Wysoka zawartość białka w poekstrakcyjnej śrucie rzepakowej, która może sięgać nawet 38% w suchej masie umożliwia wykorzystanie tej grupy komponentów białkowych w żywieniu zwierząt gospodarskich zarówno przeżuwaczy jak i monogastrycznych. Niestety zawierają także stosunkowo wysoki udział substancji antyodżywczych (ANF), do których należą (polisacharydy nieskrobiowe, kwas erukowy, glukozynolany, taniny, oligosacharydy, fityniany, inhibitory proteaz) ograniczających ich wykorzystanie w paszach dla zwierząt monogastrycznych (Schoëne i in., 2001, Smulikowska, 2003; Brzóska i in., 2010, Patyra i Kwiatek, 2015). W skład frakcji węglowodanowej pasz rzepakowych wchodzi oligosacharydy z rodziny rafinozy (ROR) w tym rafinoza i stachioza oraz glukoza, galaktoza, arabinoza i ksyloza, składające się z cząsteczki sacharozy i 1,2 lub 3 cząsteczek galaktozy (Muzquiz i in. 1999; Cummings i Stephen, 2007). Wykazują także zdolność do znacznego wiązania wody, przez co powodują wzrost lepkości treści jelitowej, obniżając sekrecję enzymów trawiennych (Shim i in. 2005) oraz wchłanianie białek, tłuszczów, witamin i składników mineralnych (Hanczakowska i Koczywas, 2008; Hikawczuk, 2013). Odporne na działanie enzymów trawiennych zwierząt monogastrycznych, ulegają bakteryjnemu rozkładowi w jelicie grubym do dwutlenku węgla, metanu, wodoru i krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Powodują powstawanie znacznych ilości gazów jelitowych wywołujących wzdęcia, nudności a także biegunki, powodując straty w produkcji zwierząt (Williams i in. 2001; Smiricky i in. 2002; Pisarikova i in. 2008; Jezierny i in. 2010).

Pasze rzepakowe mogą być częściowym lub pełnym substytutem importowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej w żywieniu określonych gatunków i grup zwierząt dopiero z zastosowaniem dodatków enzymatycznych lub po jej uszlachetnieniu w procesie fermentacji (Drażbo i in., 2018). Fermentacja jest prostym i tanim sposobem przetwarzania i konserwacji materiałów paszowych. Przetworzenie następuje poprzez szybkie obniżenie pH w obecności kwasów organicznych. Jednakże w zależności od warunków tych procesów (temp., wilgotność, czas, typ urządzeń) mogą one wpływać zarówno korzystnie jak i niekorzystnie na strawność tych składników (Li i in. 2002). Dlatego też stosuje się kultury starterowe – inokulanty zawierające wyselekcjonowane mikroorganizmy, ukierunkowując przebieg fermentacji i ograniczenie rozwoju negatywnej flory. Preparaty te zawierają także enzymy, beta glukanazę lub celulazę, które wydawnie poprawiają skuteczność przetwarzania. Enzymy bowiem mają za zadanie szybko i skutecznie uwolnić dodatkowe cukry z węglowodanów zawartych w materiale (Bedford, 2000).

W danych literaturowych dostępne są opracowania w których prowadzona była fermentacja mączki rzepakowej z użyciem bakterii oraz drożdży (*Rhizopus oligosporus*, lub kultury *Lactobacillus fermentum*, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces cerevisiae* i *Bacillus subtilis*). Badania te wykazały, że proces fermentacji może zmniejszyć zawartość glukozynolanów – glukobrassyliny (o 97,3%), oligosacharydów (73%), ligniny i NDF (o 30%) i fitynianów (o 67%) w zależności od składu inokulum i warunków procesu (Bau i in. 1994, Chianga i in. 2010).

Znane są także rozwiązania, które przewidują redukcję oligocukrów z rodziny rafinozy w soi za pomocą fermentacji. W patencie o nr KR890001268 fermentowano mleko sojowe i nasiona fasoli/soi przez drożdże. Metoda rozpuszczania rafinozy i stachiozy i usuwania z nasion obejmuje etapy mycia nasion soi i gotowania ich w temp. 100°C, następnie rozkruszenie gotowanej soi i dodawanie 1–2% (v/v) bulionu drożdży do rozdrobnionej soi i mieszanie całości mieszaniny, a następnie prowadzenie fermentacji beztlenowej w temp. 30°C przez 24 godziny.

Z kolei rozwiązanie amerykańskie US4216235 omawia sposób usuwania gazotwórczych oligocukrów obecnych w soi. Sposób ten obejmuje wytwarzanie wodnej zawiesiny soi zawierającej od 5 do 45% wagowych suchej masy, inokulując tak przygotowaną zawiesinę co najmniej jednym szczepem *Saccharomyces uvarum*. Fermentacja zgodnie z opisem prowadzona była w warunkach beztlenowych przez co najmniej 8 godzin w temperaturze od 15°C do 50°C.

Znane metody, w jakich inokulanty, preparaty mikrobiologiczne, enzymatyczne i preparaty chemiczne, w szczególności o działaniu zakwaszającym, wprowadzane są do materiału fermentowanego pośrednio mogą wpływać na obniżenie zawartości oligocukrów. Efektywność procesu fermentacji uzależniona jest od warunków rozwoju mikroorganizmów, na który wpływa wilgotność, temperatura, czas, pH, dostęp tlenu i substratów. W praktyce analitycznej zmiany zachodzące podczas przetwarzania pasz często powodowały poprawę części właściwości otrzymanego produktu jak i pogorszenie innych np. wzrost zawartości alkaloidów. W rezultacie konieczne staje się poszukiwanie nowych kompozycji inokulantów i optymalizowanie parametrów procesu fermentacji, podłoża i substratów, aby możliwe było jak najszersze pozytywne działanie zmierzające do poprawy wartości pokarmowej pasz, która przyczyni się do możliwości wykorzystania pasz rzepakowych w żywieniu, w szczególności młodszych grup technologicznych i wydajności produkcyjnej, wykorzystania dostępnego materiału i obniżenia kosztów produkcji.

Udało się poprzez zastosowanie sposobu uszlachetniania śruty rzepakowej nieoczekiwanie odkryć, że proces fermentacji z udziałem dodatku egzogennej 6-fitazy wraz z preparatem bakteryjnym, w skład którego wchodzi *Lactobacillus Brevis*, *L. Plantarum*, *L. Kefiri* oraz mieszaniny enzymów składającej się z (endo-1,4 beta glukanazy, endo-1,3(4) beta glukanazy, endo-1,4 beta ksylanazy pozwala na wykorzystanie w procesie uszlachetniania oligosacharydów (ROR) z rodziny rafinozy (rafinoza i stachioza). Mając na uwadze, iż przemysł paszowy poszukuje szybkich, tanich i prostych rozwiązań technologicznych, poprawiających wartości odżywcze śruty rzepakowej, zaproponowany proces przetwarzania pozwala ponadto obniżyć koszty paszy poprzez zastosowanie w mieszance zamiast drogiej poekstrakcyjnej śruty sojowej fermentowanej śruty rzepakowych.

Sposób uszlachetniania śruty rzepakowej poprzez zastosowanie procesu węgłnej fermentacji z zastosowaniem enzymów i bakterii jako sposób na redukcję oligosacharydów z rodziny rafinozy według wynalazku polega na tym, że śrutę rzepakową o zawartości białka nie mniejszej niż 15%, korzystnie w warunkach beztlenowych, poddaje się fermentacji stałej węgłnej, a do wody z dodatkiem enzymatycznym sypkiej egzogennej 6-fitazy o maksymalnej aktywności 1,5 mln FYT/kg wraz z preparatem bakteryjnym, w skład którego wchodzi *Lactobacillus Brevis*, *L. Plantarum*, *L. sathefiri* 5.0×10^{10} cfu/g oraz dodatkiem multi-enzymatycznym składającym się z (endo-1,4 beta glukanazą 80 000 U/kg, endo-1,3(4) beta glukanaza, 70 000 U/kg, endo-1,4 beta ksylanaza 270 000 U/kg) dodaje się śrutę rzepakową, a po co najmniej 24 h neutralizuje się mikroorganizmy, wygrzewając uzyskaną mieszaninę w temperaturze nie mniejszej niż 70°C przez co najmniej 15 minut, i korzystnie suszy się uzyskany produkt w temperaturze od 45 do 60°C, korzystnie 50–55°C do osiągnięcia co najmniej 86% suchej masy.

Przy czym korzystnie, gdy śrutę rzepakową w ilości 1 : 2 miesza się z wodą, korzystnie letnią w temperaturze 20–35°C, korzystnie 20°C i do otrzymanej mieszaniny aplikuje się enzym w postaci sypkiej egzogennej 6-fitazy o maksymalnej aktywności 1,5 mln FYT/kg w ilości 0,01% do 5%, korzystnie nie mniejszej niż 1% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą, wraz z preparatem bakteryjnym, w skład którego wchodzi *Lactobacillus Brevis*, *L. Plantarum*, *L. Kefiri*, 5.0×10^{10} cfu/g w ilości 0,01% do 5%, korzystnie nie mniejszej niż 1% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą oraz dodatkiem multi-enzymatycznym składającym się z (endo-1,4 beta glukanazą 80 000U/kg, endo-1,3(4) beta glukanaza, 70 000U/kg, endo-1,4 beta ksylanaza 270 000 U/kg) każdy w ilości 0,01% do 5%, korzystnie nie mniejszej niż 1% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą, a surowce miesza się, co najmniej w momencie dodawania, korzystnie utrzymując temperaturę pokojową lub wyższą, korzystnie temperaturę 20°C przez co najmniej 18 h, jednak nie dłużej niż 30 h, korzystnie 24 h.

Korzystnie, gdy wszystkie stosowane dodatki mają postać sypką. Korzystnie, gdy w przypadku stosowania enzymu sypkiego, jest on homogenicznie zmieszany z wodą przed dodaniem śruty rzepakowej, korzystnie w stosunku 1 : 2 (śruta rzepakowa : woda).

Korzystnie fermentację prowadzi się w naczyniach szklanych, pojemnikach, beczkach lub fermentatorach z tworzywa sztucznego, korzystnie plastiku lub plexi.

Jak pokazały przeprowadzone badania porównawcze w surowej śrucie rzepakowej (materiał wyjściowy) i produktach fermentacji zarówno podczas analizy oligosacharydów metodą chromatografii gazowej wg. Zalewski i in. (2001) oraz obliczeń statystycznych przy pomocy programu komputerowego

SAS 9.3. (USA) oraz SAS Enterprise Guide 5.1 z przyjęciem istotności różnic pomiędzy grupami oraz interakcję pomiędzy nimi obliczono przy użyciu szczegółowego testu t-Studenta (dla porównania w parach) przy $P \leq 0.05$, uzyskany produkt charakteryzuje się obniżoną zawartością oligosacharydów z rodziny rafinozy. Wyniki przeprowadzonych testów obrazuje tabela.

Tabela 1. Zawartość cukrowców w tym oligosacharydów z rodziny rafinozy w materiale wyjściowym (śruty rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej.

Lp.	Wyszczególnienie		Poekstrakcyjna śruta rzepakowa	Fermentowana poekstrakcyjna śruta rzepakowa	P
	mg g-1 suchej masy cukrowce		średnia	średnia	
1	fruktoza		1.01 ^a	0.46 ^b	<.0001
2	galaktoza		0.00 ^b	0.14 ^a	<.0001
3	glukoza		1.60 ^a	0.23 ^b	<.0001
4	sacharoza		75.79 ^a	0.65 ^b	<.0001
6	galaktinol		2.27 ^a	0.76 ^b	<.0001
7	rafinoza	Cukry z rodziny rafinozy	3.97 ^a	2.22 ^b	<.0001
8	stachioza		27.17 ^a	13.66 ^b	<.0001
9	1-KESTOZA/melcocytoza		0.61 ^a	0.00 ^b	<.0001
10	di-galaktozylo-glicerol		0.74 ^a	0.15 ^b	<.0001
11	Mannitol		0.30 ^b	6.09 ^a	<.0001
	suma		113.16	18.27	<.0001

^{a,b} wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie $P < 0.05$, pP – prawdopodobieństwo testowe

Stwierdzono korzystne zmiany w zawartości cukrowców, wykorzystanie sacharozy, produkcję mannitolu i rozkład ponad połowy oligosacharydów (rafinozy i stachiozy) należących do substancji antyodżywczych.

Wytworzona fermentowana śruta rzepakowa może zostać wykorzystana do produkcji mieszanek pełnoporcjowych, pasz uzupełniających, koncentratów i innych mieszanek paszowych stosowanych w żywieniu zwierząt.

Przykłady zastosowania

Przykład I

Sposób uszlachetniania śruty rzepakowej poprzez zastosowanie procesu wgłębnej fermentacji z zastosowaniem enzymów i bakterii jako sposób na redukcję oligosacharydów z rodziny rafinozy według wynalazku polega na tym, śrutę o zawartości białka większej niż 22%, w warunkach beztlenowych poddaje się fermentacji stałej wgłębnej, a do wody aplikuje się enzym w postaci sypkiej egzogennej 6-fitazy o maksymalnej aktywności 1,0 mln FYT/kg w ilości 0,1% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą, wraz z preparatem bakteryjnym, w skład którego wchodzi Lactobacillus Brevis, L. Plantarum, L. Kefiri, 5.0×10^{10} cfu/g w ilości 1% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą oraz dodatkiem multi-enzymatycznym składającym się z (endo-1,4 beta glukanażą 80 000 U/kg, endo-1,3(4) beta glukanażą, 70 000U/kg, endo-1,4 beta ksylanazą 270 000 U/kg) w ilości każdy 0,1% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą, a po 24 h neutralizuje się mikroorganizmy, wygrzewając uzyskaną mieszaninę w temperaturze 70°C przez 15 minut, suszy się uzyskany produkt w temperaturze 50–55°C do osiągnięcia 86% suchej masy.

Przy czym śrutę rzepakową w ilości 1 : 2 miesza się z letnią wodą o temperaturze około 20°C wymieszanej z enzymem w postaci sypkiej egzogennej 6-fitazy o aktywności 1,0 mln FYT/kg w ilości

korzystnie 0.1% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą, wraz z preparatem bakteryjnym, w skład którego wchodzi *Lactobacillus Brevis*, *L. Plantarum*, *L. Kefiri*, 5.0×10^{10} cfu/g w ilości 0.1% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą oraz mieszaniny enzymów składającej się z (endo-1,4 beta glukanaż 80 000 U/kg, endo-1,3(4) beta glukanaż, 70 000 U/kg, endo-1,4 beta ksylanaza 270 000 U/kg) w ilości 0.1% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą, a surowce miesza się w momencie dodawania, utrzymując temperaturę pokojową 20°C przez cały proces fermentacji.

Dodawane enzymy i preparat bakteryjny mają postać sypką i homogenicznie mieszają się z mieszaniną wody i śruty w stosunku 2 : 1

Fermentację prowadzi się w naczyniach wybranych spośród naczyń szklanych, pojemników, beczek lub fermentatorów z tworzywa sztucznego.

Jak pokazały przeprowadzone badania porównawcze w surowej śrucie rzepakowej (materiał wyjściowy) i produktach fermentacji zarówno podczas analizy oligosacharydów metodą chromatografii gazowej wg. Zalewski i in. (2001) oraz obliczeń statystycznych przy pomocy programu komputerowego SAS 9.3. (USA) oraz SAS Enterprise Guide 5.1 z przyjęciem istotności różnic pomiędzy grupami oraz interakcją pomiędzy nimi obliczono przy użyciu szczegółowego testu t-Studenta (dla porównania w parach) przy $P \leq 0.05$, uzyskany produkt charakteryzuje się obniżoną zawartością oligosacharydów z rodziny rafinozy. Wyniki przeprowadzonych testów obrazuje tabela.

Określenie wpływu procesu fermentacji na zmiany w zawartości cukrowców w tym oligosacharydów z rodziny rafinozy w materiale wyjściowym (śruty rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej.

Tabela 1. Zawartość cukrowców w tym oligosacharydów z rodziny rafinozy w materiale wyjściowym (śruty rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej.

	Wyszczególnienie		Poekstrakcyjna	Fermentowana	P
	mg g-1 suchej masy		śruta rzepakowa	poekstrakcyjna śruta rzepakowa	
Lp.	cukrowce		średnia	średnia	
1	fruktoza		1.01 ^a	0.46 ^b	<.0001
2	galaktoza		0.00 ^b	0.14 ^a	<.0001
3	glukoza		1.60 ^a	0.23 ^b	<.0001
4	sacharoza		75.79 ^a	0.65 ^b	<.0001
6	galaktinol		2.27 ^a	0.76 ^b	<.0001
7	rafinoza	Cukry z rodziny rafinozy	3.97 ^a	2.22 ^b	<.0001
8	stachioza		27.17 ^a	13.66 ^b	<.0001
9	1-KESTOZA/melecycytoza		0.61 ^a	0.00 ^b	<.0001
10	di-galaktozylo-glicerol		0.74 ^a	0.15 ^b	<.0001
11	Mannitol		0.30 ^b	6.09 ^a	<.0001
	suma		113.16	18.27	<.0001

^{a,b} wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie $P < 0.05$, pP – prawdopodobieństwo testowe

Stwierdzono korzystne zmiany w zawartości cukrowców, wykorzystanie sacharozy, produkcję mannitolu i rozkład ponad połowy oligosacharydów (rafinozy i stachiozy) należących do substancji antyodżywczych.

Przykład II

Sposób uszlachetniania śruty rzepakowej poprzez zastosowanie procesu wglębnej fermentacji z zastosowaniem enzymów i bakterii jako sposób na redukcję oligosacharydów z rodziny rafinozy według wynalazku polega na tym, że śrutę rzepakową o zawartości białka większej niż 18%, w warunkach

beztlenowych poddaje się fermentacji węgłowej, a do wody aplikuje się enzym w postaci sypkiej egzogennej 6-fitazy o maksymalnej aktywności 1,0 mln FYT/kg wraz z preparatem bakteryjnym, w skład którego wchodzi *Lactobacillus Brevis*, *L. Plantarum*, *L. Kefiri* 5.0×10^{10} cfu/g oraz mieszaniny enzymów składającej się z (endo-1,4 beta glukanażą 80 000 U/kg, endo-1,3(4) beta glukanażą, 70 000 U/kg, endo-1,4 beta ksylanazą 270 000 U/kg), a następnie śrutę rzepakową, a po 24 h neutralizuje się mikroorganizmy, wygrzewając uzyskaną mieszaninę w temperaturze 70°C przez 15 minut, suszy się uzyskany produkt w temperaturze 50–55°C do osiągnięcia 86% suchej masy.

Przy czym śrutę rzepakową w ilości 1 : 2 miesza się z letnią wodą o temperaturze około 20°C się zawierającej dodatek enzymatyczny w postaci sypkiej egzogennej 6-fitazy o maksymalnej aktywności 1,0 mln FYT/kg w ilości 0,01% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą, wraz z preparatem bakteryjnym, w skład którego wchodzi *Lactobacillus Brevis*, *L. Plantarum*, *L. Kefiri*, 5.0×10^{10} cfu/g w ilości 0,01% każdy w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą oraz mieszaniny enzymów składającej się z (endo-1,4 beta glukanażą 80 000 U/kg, endo-1,3(4) beta glukanażą, 70 000 U/kg, endo-1,4 beta ksylanazą 270 000 U/kg) w ilości 0,01% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą a surowce miesza się w momencie dodawania, utrzymując temperaturę pokojową 20°C przez cały proces fermentacji.

Dodatki enzymatyczne i preparat bakteryjny mają postać suchą sypką i miesza się je z wodą przed dodaniem śruty rzepakowej. Fermentację prowadzi się w naczyniach wybranych spośród naczyń szklanych, pojemników, beczek lub fermentatorów z tworzywa sztucznego.

Jak pokazały przeprowadzone badania porównawcze w surowej śrucie rzepakowej (materiał wyjściowy) i produktach fermentacji zarówno podczas analizy oligosacharydów metodą chromatografii gazowej wg. Zalewski i in. (2001) oraz obliczeń statystycznych przy pomocy programu komputerowego SAS 9.3. (USA) oraz SAS Enterprise Guide 5.1 z przyjęciem istotności różnic pomiędzy grupami oraz interakcją pomiędzy nimi obliczono przy użyciu szczegółowego testu t-Studenta (dla porównania w parach) przy $P \leq 0.05$, uzyskany produkt charakteryzuje się obniżoną zawartością oligosacharydów z rodziny rafinozy. Wyniki przeprowadzonych testów obrazuje tabela.

Tabela 1. Zawartość cukrowców w tym oligosacharydów z rodziny rafinozy w materiale wyjściowym (śruta rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej.

	Wyszczególnienie		Poekstrakcyjna śruta rzepakowa	Fermentowana poekstrakcyjna śruta rzepakowa	P
	mg g-1 suchej masy				
Lp.	cukrowce		średnia	średnia	
1	fruktoza		1.01 ^a	0.46 ^b	<.0001
2	galaktoza		0.00 ^b	0.14 ^a	<.0001
3	glukoza		1.60 ^a	0.23 ^b	<.0001
4	sacharoza		75.79 ^a	0.65 ^b	<.0001
6	galaktinol		2.27 ^a	0.76 ^b	<.0001
7	rafinoza	Cukry z rodziny rafinozy	3.97 ^a	2.22 ^b	<.0001
8	stachioza		27.17 ^a	13.66 ^b	<.0001
9	1-KESTOZA/melecycytoza		0.61 ^a	0.00 ^b	<.0001
10	di-galaktozylo-glicerol		0.74 ^a	0.15 ^b	<.0001
11	Mannitol		0.30 ^b	6.09 ^a	<.0001
	suma		113.16	18.27	<.0001

^{a,b} wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie $P < 0.05$, P – prawdopodobieństwo testowe.

Stwierdzono korzystne zmiany w zawartości cukrowców, wykorzystanie sacharozy, produkcję mannitolu i rozkład ponad połowy oligosacharydów (rafinozy i stachiozy) należących do substancji antyodżywczych.

Wytworzony fermentowana śruta rzepakowa może zostać wykorzystany do produkcji mieszanek pełnoporcjowych, pasz uzupełniających, koncentratów i innych mieszanek paszowych stosowanych w żywieniu zwierząt.

Literatura

a). Piśmiennictwo naukowe

- Bau H.M., Villaume C., Lin C.F., Evrard J., Quemener B., Nicolas J.P., Mejean L. 1994. Effect of a solid-state fermentation using *Rhizopus oligosporus* sp. T-3 on elimination of antinutritional substances and modification of biochemical constituents of defatted rapeseed meal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 65, 3: 315–322.
- Bedford M.R. 2000. Exogenous enzyme in monogastric nutrition – Their current value and future benefits. *Anim. Feed Science Technology*. 86: 1–13.
- Brzóska F., Śliwiński B., Michalik-Rutkowska O. 2010. Pasze rzepakowe – miejsce w bilansie białkowym kraju oraz wartość pokarmowa. *Wiadomości Zootechniczne*, R. XLVIII. 2–3: 11–18.
- Chiang G., Lu W. Q., Piao X. S., Hu J. K., Gong L. M., Thacker P. A. 2010. Effects of feeding solid-state fermented rapeseed meal on performance, nutrient digestibility, intestinal ecology and intestinal morphology of broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 23, 2: 263–271.
- Cummings J.H., Stephen A.M. 2007. Carbohydrate terminology and classification. *European Journal of Clinical Nutrition*. 61, 1: 5–18.
- Dražbo A., Ognik K., Zaworska A., Ferenc K., Jankowski J. 2018. The effect of raw and fermented rapeseed cake on the metabolic parameters, immune status, and intestinal morphology of turkeys. *Poultry Science*, Vol. 97, Issue 11, Pages 3910–3920.
- Florou-Paneri, P., Christaki, E., Giannenas, I., Bonos, E., Skoufos, I., Tsinas, A., Tzora, A. & Peng, J. 2014. Alternative protein sources to soybean meal in pig diets. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 12, 655–660.
- Hanczakowska E., Koczywas E. 2008. Zastosowanie enzymów rozkładających polisacharydy nieskrobiowe w żywieniu świń. *Wiadomości Zootechniczne*. R. XLVI, 2: 9–16.
- Hikawczuk T. 2013. Wpływ polisacharydów nieskrobiowych ziaren zbóż na parametry fizjologiczne wola i jelita cienkiego oraz strawność składników pokarmowych u kurcząt brojlerów. *Rozprawa doktorska*. Wrocław: 133.
- Jezierny D., Mosenthin R., Bauer E. 2010. The use of grain legumes as a protein source in pig nutrition: A review. *Animal Feed Science and Technology*. 157: 111–128.
- Li D., Pengbin X., Liming G., Shijun F., Canghai H. 2002. Determination of apparent ileal amino acid digestibility in rapeseed meal and cake processed at different temperatures using the direct and difference method with growing pigs. *Arch Tierernähr*. 56,5: 339–349.
- Muzquiz M., Burbano C., Pedrosa M. M., Folkman W., Gulewicz K. 1999. Lupins as a potential source of raffinose family oligosaccharides: Preparative method for their isolation and purification. *Industrial Crops and Products*, 9: 183–188.
- Patyra, K. Kwiatkowski. 2015. Glukozynolany – składniki antyżywniowe pasz. *Życie Weterynaryjne*. 2015, 90(10).
- Pisarikova B., Zraly Z., Bunka F., Trackova M. 2008. Nutritional value of white lupine cultivar Butan in diets for fattening pigs. *Veterinary Medicine*. 53: 124–134.
- Rękas, A., Wroniak, M., Krygier, K.. Rynek rzepaku i oleju rzepakowego w Polsce i na świecie. *Perspektywa rozwoju produkcji w latach 2003/2004–2014/2015*. *Przemysł Spożywczy*. 70, 16–19.
- Shim S.B., Williams I.H., Verstegen M.W.A., 2005. Effects of dietary fructo-oligosaccharide on villous height and disaccharidase activity of the small intestine, pH, VFA and ammonia concentrations in the large intestine of weaned pigs. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A – Animal Science*. 55: 2–3.
- Schoëne F., Leiterer M., Hartung H., Jahreis G., Tischendorf F. 2001. Rapeseed glucosinolates and iodine in sows affect the milk iodine concentration and the iodine status of piglets. *British Journal of Nutrition*, 85, 659–670.
- Smiricky M.R., Grieshop C.M., Albin D.M., Wubben J.E., Gabert V.M., Fahey G.C. J. 2002. The influence of soy oligosaccharides on apparent and true ileal amino acid digestibilities and fecal consistency in growing pigs. *Journal of Animal Science*. 80, 9: 2433–2441.

Smulikowska S. 2003. Wartość odżywcza wyłoków rzepakowych dla drobiu. Polskie Drobiarstwo. 6: 9–11.
Williams B.A., Verstegen M.W.A., Tamming S. 2001. Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. Nutrition Research Reviews. 14, 02: 207–228.

b). Patenty:
KR890001268
US4216235

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób uszlachetniania śruty rzepakowej poprzez zastosowanie procesu wgłębnej fermentacji z zastosowaniem enzymów i bakterii jako sposób na redukcję oligosacharydów z rodziny rafinozy **znamienny tym**, że śrutę rzepakową o zawartości białka większej niż 15%, poddaje się fermentacji stałej wgłębnej, a do wody z dodatkiem enzymatycznym sypkiej egzogennej 6-fitazy o maksymalnej aktywności 1,5 mln FYT/kg wraz z preparatem bakteryjnym, w skład którego wchodzi Lactobacillus Brevis, L. Plantarum, L. sathefiri 5.0×10^{10} cfu/g oraz dodatkiem multi-enzymatycznym składającym się z (endo-1,4 beta glukanazą 80 000 U/kg, endo-1,3(4) beta glukanaza, 70 000 U/kg, endo-1,4 beta ksylanaza 270 000 U/kg) w ilości każdego od 0,01 do 5% wagowych dodaje się śrutę rzepakową w stosunku 1 : 2 śruta/woda), a po co najmniej 24 h neutralizuje się mikroorganizmy, wygrzewając uzyskaną mieszaninę w temperaturze nie mniejszej niż 70°C przez 15 minut, i suszy się uzyskany produkt w temperaturze od 45 do 60°C, korzystnie 50–55°C do osiągnięcia co najmniej 86% suchej masy.
2. Sposób według zastrz. 1 **znamienny tym**, że fermentację prowadzi się w warunkach bez-tlenowych.
3. Sposób według zastrz. 1 albo 2 **znamienny tym**, że dodatki enzymatyczne i preparat bakteryjny ma postać suchą, sypką.
4. Sposób według zastrz. 1 albo 2, albo 3 **znamienny tym**, że śrutę rzepakową w ilości 1 : 2 (śruta rzepakowa : woda) miesza się z wodą o temperaturze 20–35°C i do otrzymanej mieszaniny aplikuje się enzym w postaci sypkiej egzogennej 6-fitazy o maksymalnej aktywności 1,5 mln FYT/kg wraz z preparatem bakteryjnym, w skład którego wchodzi Lactobacillus Brevis, L. Plantarum, L. Kefiri, 5.0×10^{10} cfu/g oraz z mieszaniną enzymów składającą się z (endo-1,4 beta glukanazą 80 000 U/kg, endo-1,3(4) beta glukanaza, 70 000 U/kg, endo-1,4 beta ksylanaza 270 000 U/kg, a surowce miesza się, co najmniej w momencie ich dodawania.
5. Sposób według zastrz. 4 **znamienny tym**, że woda ma temperaturę 20°C.
6. Sposób według zastrz. 4 albo 5 **znamienny tym**, że podczas fermentacji utrzymuje się temperaturę pokojową lub wyższą przez co najmniej 18 h i nie dłużej niż 30 h.
7. Sposób według zastrz. 4 albo 5 **znamienny tym**, że podczas fermentacji utrzymuje się temperaturę 30°C pokojową lub wyższą przez co najmniej 18 h i nie dłużej niż 30 h.
8. Sposób według zastrz. 6 albo 7 **znamienny tym**, że czas fermentacji wynosi 24 h.
9. Sposób według dowolnego z wcześniejszych zastrzeżeń **znamienny tym**, że fermentację prowadzi się w naczyniach wybranych spośród: szklanych, pojemników, beczek lub fermentatorów z tworzywa sztucznego, korzystnie plastiku lub plexi.
10. Sposób według dowolnego z wcześniejszych zastrzeżeń **znamienny tym**, że uszlachetniona w procesie według wynalazku śruta rzepakowa uzyskana zawiera obniżone zawartości oligocukrów z rodziny rafinozy.