

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10)

PL 242641 B1

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **429784**

(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

Herberrry 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 na obniżenie poziomu glukozyolanów w śrucie rzepakowej poprzez fermentację z zastosowaniem enzymów i bakterii

PL 242641 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób uszlachetniania śruty rzepakowej poprzez zastosowanie procesu fermentacji w celu obniżenia poziomu glukozyolanów 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. 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 stosunkowo wysoką wartością pokarmową. Niestety zawarty także w paszach rzepakowych w tym w śrucie rzepakowej fosfor jest praktycznie niedostępny dla zwierząt, występujące on w postaci soli potasowych i magnezowych (rzadziej wapniowych), w ciałach białkowych lub ziarnach aleuronowych w postaci globoidów zanurzonych w substancji podstawowej (białko bezpostaciowe) (Sathe i Reddy, 2001; Angel i in., 2002; Dersjant-Li i in., 2015). Ponadto ze względu na mnogość reaktywnych miejsc, fityniany mogą wiązać kationy (dwu- lub trójwartościowe) nie tylko w obrębie pojedynczej grupy fosforanowej, ale także pomiędzy różnymi grupami fosforanowymi tej samej molekuły lub pomiędzy grupami fosforanowymi różnych cząsteczek fitynianów, tak więc struktura cząsteczki jest zgodna z wysoką zdolnością chelatowania. Z Zn^{2+} tworzą najbardziej stabilne sole, następnie kolejno z Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} i Fe^{2+} w malejącej stabilności (Angel i in., 2002; Bohn i in., 2008). W badaniach (Coulibaly i in., 2011; Selle i in., 2012), wykazana również została możliwość powstawania potrójnych kompleksów białka, kwasu fitynowego i węglowodanów. Odpowiednie zbilansowanie mieszanki pod względem zawartości fosforu jest bardzo istotne, gdyż jego niedobór obniża produktywność zwierząt, a wprowadzony w nadmiarze zwiększa jej koszt i negatywnie obciąża środowisko naturalne (Prasad i in., 2015). W żywieniu zwierząt, w celu zredukowania negatywnego działania kwasu fitynowego, związek ten powinien ulec hydrolizie. Wśród zabiegów technologicznych redukujących zawartość fitynianów w surowcach paszowych można wymienić między innymi moczenie, kiełkowanie czy fermentację (Kasprowicz-Potocka, 2012; Zaworska i in., 2017). W większości zabiegów technologicznych hydroliza kwasu fitynowego jest wynikiem działania natywnych enzymów degradujących fityniany – fitaz, naturalnie występujących w roślinach. Jednakże w ostatnich latach najbardziej rozpowszechnionym w przemyśle paszowym oraz najbardziej efektywnym sposobem rozkładu fitynianów stało się stosowanie dodatku egzogennej fitazy mikrobiologicznej (Selle i Ravindran, 2007; Dersjant-Li i in., 2015), także do procesów uszlachetniania pasz (Zaworska, 2017).

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, o które wydatnie 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 glukozyolanów – 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).

Jak wykazały badania (El-Batal i Karem, 2001) z wykorzystaniem *Aspergillus Niger*, w wyniku fermentacji poekstrakcyjnej śruty rzepakowej następuje redukcja związków antyżywniowych w tym przede wszystkim fitynianów.

Znane są także rozwiązania, które przewidują redukcję z nasion roślin oleistych glukozynolanów. W amerykańskim patencie o nr US2018042266 przedstawiono proces usuwania glukozynolanów z nasion roślin oleistych, przede wszystkim z nasion *Brassica carinata*. W rozwiązaniu tym, egzogenną miozynazę stosuje się do przekształcania glukozynolanów w lotne związki izotiocyjanianowe, które można następnie usunąć pod wpływem ciepła i podciśnienia. W innym przykładzie za pomocą podgrzania i ciśnienia usuwano glukozynolany z nasion oleistych *Brassica carinata*. Uzyskane po uszlachetnieniu materiały mogą zawierać nawet 80% mniej glukozynolanów, dzięki czemu i mogą być odpowiednie do stosowania w różnych zastosowaniach, w tym jako karma dla zwierząt.

Z kolei w rozwiązaniu CN107865200 (A) wynalazek ujawnia sposób usuwania glukozynolanów z mączki z nasion chrzanu. Sposób obejmuje etapy suszenia nasion chrzanu, do zawartość wody 7% lub poniżej, proszkowania, przesiewanie za pomocą sita o wielkości oczek 40 i ekstrakcję oleju. Do wysterylizowanej i schłodzonej mączki z nasion chrzanu dokonuje się wstrzyknięcia zawiesiny zarodników drobnoustroju *Aspergillus Niger* a następnie przeprowadza się fermentację w stanie stałym w warunkach 32–38°C przez 48–96 godzin. Na koniec umieszcza się mączki z nasion chrzanu w warunkach 105°C i suszy przez 24 godziny, zatrzymując fermentację.

W patencie CN103421055 (A) przedstawiono sposób ekstrakcji glukozynolanów z łodygi i liści odpadowych brokuł. Sposób charakteryzuje się tym, że odpady warzywne – łodygi i liści warzyw, które są bogate w glukozynolany m.in. brokuły, kalafior są stosowane jako surowce, a glukozynolany są ekstrahowane za pomocą kolumny anionowymiennej. Metoda ta ma zalety polegające na zamianie odpadów na kosztowności, oszczędność zużycia energii, wzrost wartości dodanej ekonomicznej użytków rolnych oraz wzrost dochodów rolniczych.

Z kolei rozwiązanie KR20050106022 (A) omawia także sposób obniżania zawartości glukozynolanów poprzez fermentację materiału pochodzenia roślinnego za pomocą startera zawierającego bakterię kwasu mlekowego *Lactobacillus* sp.96/142 wyizolowanego z kiszzonej kapusty. Szczep ten prawdopodobnie należy do gatunku *Lactobacillus sakei*. Bakterie kwasu mlekowego według wynalazku degradują glukozynolany zawarte w materiale roślinnym. Produkty degradacji wytwarzane przez bakterię wykazują między innymi właściwości przeciwdrobnoustrojowe i mogą wykazywać działanie prozdrowotne. Wynalazek dotyczy ponadto zastosowania wspomnianego szczepu *Lactobacillus* do wytwarzania egzopolisacharydów stosowanego do poprawy struktury uzyskanych produktów.

W rozwiązaniu znanym ze zgłoszenia CN102972192 wynalazek dotyczy sposobu zastosowania preparatu miozynazy w warunkach polowych do rozpadu glukozynolanów. Glukozynolany w mące z nasion rzepaku ulegają szybkiej degradacji poprzez zastosowanie preparatu miozynazy do uwalniania izosulfocyjanianu butylu i dalej rozwijają działanie hamujące rozwój patogenu i zwalczające choroby. Sposób charakteryzuje się tym, że obejmuje etapy: usuwania resztek wytworzonych przez poprzednie uprawy w polu przy temperaturze gleby powyżej 15°C, przeprowadzanie uprawy roli na 20–25 cm po nawozu wprost na glebę, równomierne rozprowadzanie nasion rzepaku na polu, równomierne rozprowadzanie preparatu miozynazy w warunkach polowych.

Znane są metody, w jakich pośrednio można wpływać na obniżenie zawartości glukozynolanów w uzyskanych produktach. Jednakże nie podejmowano się prowadzenia fermentacji wgłębnej w śrucie rzepakowej preparatami enzymatycznymi i preparatem wielobakteryjnym w celu poprawy wartości odżywczej śruty rzepakowej poprzez obniżenie zawartości glukozynolanów.

Nieoczekiwanie zastosowany sposób uszlachetniania śruty rzepakowej według wynalazku, jak potwierdziły testy laboratoryjne, powoduje dzięki procesowi 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 blisko dziesięciokrotne zredukowanie koncentracji glukozynolanów w uszlachetnionej paszy. 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 mieszanke zamiast drogiej poekstrakcyjnej śruty sojowej fermentowej śruty rzepakowej.

Sposób uszlachetniania śruty rzepakowej według wynalazku polega na tym, że śrutę rzepakową o zawartości białka nie mniejszej niż 15%, korzystnie w warunkach beztlenowych, 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 glukanażą 80 000U/kg, endo-1,3(4) beta glukanażą, 70 000 U/kg, endo-1,4 beta ksyłanaza 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 15 minut, po czym 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, na potrzeby fermentacji, 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% – 5% masowych, jednak 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 korzystnie 0,01% do 5% nie mniejszej niż 1% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą oraz dodatkiem multi-enzymatycznym składającym się z (endo-1,4 beta glukanażą 80 000U/kg, endo-1,3(4) beta glukanażą, 70 000U/kg, endo-1,4 beta ksyłanaza 270 000 U/kg) w ilości korzystnie 0,01% do 5% 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 podczas oznaczania glukozynolanów metodą silylową wg Raney'a, i dokonania obliczeń statystycznych przy pomocy programu komputerowego SAS 9.3. (USA) oraz SAS Enterprise Guide 5.1 z przyjęciem istotności różnic pomiędzy grupami przy użyciu szczegółowego testu t-Studenta (dla porównania w parach) przy $P \leq 0.05$, stwierdzono, że uzyskany produkt charakteryzuje się istotnie obniżoną zawartością glukozynolanów w produkcie. Wyniki przeprowadzonych testów obrazuje poniższa tabela.

Określenie wpływu procesu fermentacji na zmiany w zawartości glukozynolanów materiału wyjściowego (śruty rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej.

Tabela 1. Zawartość glukozynolanów w materiale wyjściowym (śruty rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej.

Wyszczególnienie μmol/g	Poekstrakcyjna śruta rzepakowa	Fermentowana poekstrakcyjna śruta rzepakowa	P
glukozynolany (suma)	10.20 ^a	1.06 ^b	<.0001
glukonapina	2.44 ^a	0.42 ^b	<.0001
glukobrassicinapina	0.79 ^a	0.16 ^b	<.0001
progoitryna	5.96 ^a	0.37 ^b	<.0001
napoleiferyna	0.34 ^a	0.00 ^b	<.0001
hydroksyglukobrassicyna	0.67 ^a	0.11 ^b	<.0001

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

Fermentacja śruty rzepakowej blisko dziesięciokrotnie zredukowała zawartość w niej sumy wszystkich glukozynolanów w tym całkowicie zredukowała napoleiferynę. Wytworzona fermentowana

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

Przykład zastosowania

Przykład I

Sposób uszlachetniania śruty rzepakowej 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 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 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 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 ±5°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 000U/kg, endo-1,4 beta ksylanaza 270 000 U/kg) w ilości 0,1% każdego 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 podczas oznaczania glukozynolanów metodą silylową wg Raney'a, po obliczeń statystycznych przy pomocy programu komputerowego SAS 9.3. (USA) oraz SAS Enterprise Guide 5.1 z przyjęciem istotności różnic pomiędzy grupami oraz przy użyciu szczegółowego testu t-Studenta (dla porównania w parach) przy $P \leq 0.05$, uzyskany produkt charakteryzuje lepszą wartością pokarmową dzięki obniżonej zawartości substancji glukozynolanów. Wyniki przeprowadzonych testów obrazuje poniższa tabela.

Tabela 1 . Zawartość glukozynolanów w materiale wyjściowym (śruty rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej.

Wyszczególnienie μmol/g	Poekstrakcyjna śruta rzepakowa	Fermentowana poekstrakcyjna śruta rzepakowa	P
glukozynolany (suma)	10.20 ^a	1.06 ^b	<.0001
glukonapina	2.44 ^a	0.42 ^b	<.0001
glukobrassicinapina	0.79 ^a	0.16 ^b	<.0001
progoitryna	5.96 ^a	0.37 ^b	<.0001
napoleiferyna	0.34 ^a	0.00 ^b	<.0001
hydroksyglukobrassicyna	0.67 ^a	0.11 ^b	<.0001

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

Fermentacja śruty rzepakowej blisko dziesięciokrotnie zredukowała zawartość w nim sumy wszystkich glukozyolanów w tym całkowicie zredukowała napoleiferynę.

Przykład II

Sposób uszlachetniania śruty rzepakowej według wynalazku polega na tym, że śrutę rzepakową o zawartości białka większej niż 18%, w warunkach beztlenowych poddaje się fermentacji węgłnej, 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 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 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 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% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą oraz mieszaniny enzymów składającej 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 0,01% każdego w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą a surowce miesza się w momencie dodawania, utrzymując temperaturę pokojową 20°C przez cały proces fermentacji.

Enzymy 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 podczas oznaczania glukozyolanów metodą silylową wg Raney'a, i z obliczeń statystycznych przy pomocy programu komputerowego SAS 9.3. (USA) oraz SAS Enterprise Guide 5.1 z przyjęciem istotności różnic pomiędzy grupami przy użyciu szczegółowego testu t-Studenta (dla porównania w parach) przy $P \leq 0.05$, stwierdzono, że uzyskany produkt charakteryzuje lepszą wartość pokarmową dzięki obniżonej zawartości glukozyolanów.

Określenie wpływu procesu fermentacji na zmiany w zawartości glukozyolanów materiału wyjściowego (śruty rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej.

Tabela 1. Zawartość glukozyolanów w materiale wyjściowym (śruty rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej.

Wyszczególnienie μmol/g	Poekstrakcyjna śruta rzepakowa	Fermentowana poekstrakcyjna śruta rzepakowa	P
glukozyolany (suma)	10.20 ^a	1.06 ^b	<.0001
glukonapina	2.44 ^a	0.42 ^b	<.0001
glukobrassicinapina	0.79 ^a	0.16 ^b	<.0001
progoitryna	5.96 ^a	0.37 ^b	<.0001
napoleiferyna	0.34 ^a	0.00 ^b	<.0001
hydroksyglukobrassicyna	0.67 ^a	0.11 ^b	<.0001

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

Fermentacja śruty rzepakowej blisko dziesięciokrotnie zredukowała zawartość w nim sumy wszystkich glukozyzolanów, w tym całkowicie zredukowała napoleiferynę.

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

Literatura

a). Piśmiennictwo naukowe

Ahlin K.A., Emmanuelsen M., Wiktorsson H.: Rapeseed products from double low cultivars as feed for dairy cow: effects of long term feeding on thyroid function, fertility and animal health. *Acta Vet. Scand.* 1994, 35, 37–53.

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.

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.

El-Batal A.I., Karem H.A. 2001. Phytase production and phytic acid reduction in rapeseed meal by *Aspergillus niger* during solid state fermentation. *Food Research International*, 34(8), 715–720.

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.

Patyra, K. Kwiatkowski. 2015. Glukozyzolany – składniki antyżywniowe pasz. *Życie Weterynaryjne*. 2015, 90(10).

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.

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.

Smulikowska S. 2003. Wartość odżywcza wyłoków rzepakowych dla drobiu. *Polskie Drobiarstwo*. 6: 9–11.

Szwejdka-Grzybowska J.: Antykancerogenne składniki warzyw kapustnych i ich znaczenie w profilaktyce chorób nowotworowych. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2011, 4, 1039–1046.

Tanii H., Takayasu T., Higashi T., Leng S., Saojoh Allylnitrile K.: Generation from cruciferous vegetables.

b). Patenty:

US2018042266

CN107865200

CN103421055

KR20050106022

CN102972192

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób uszlachetniania śruty rzepakowej **znamienny tym**, że śruta rzepakowa 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 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, poddawaną następnie fermentacji, 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 wraz 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 śruta rzepakowa uzyskana zgodnie z zastrzeżeniem 1 zawiera nie więcej niż 1.1 $\mu\text{mol/g}$ udziałem glukozyolanów.