

Sposób redukcji fosforu fitynowego w śrucie rzepakowej poprzez fermentację z dodatkami enzymatycznymi i bakteriami

Przedmiotem wynalazku jest sposób redukcji fosforu fitynowego w śrucie rzepakowej poprzez fermentację z dodatkami enzymatycznymi i bakteriami w celu redukcji fosforu fitynowego w materiale przeznaczonym do wykorzystania w żywieniu zwierząt monogastrycznych, zwłaszcza drobiu, w szczególności kurcząt brojlerów i indyków.

5 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

10 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

15 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). Ponadto

20 zawarty w paszach rzepakowych 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 znużonych w substancji podstawowej (białko bezpostaciowe) (Sathe i Reddy, 2001; Angel i in., 2002; Dersjant-Li i in., 2015). Ponadto ze

25 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 molekuly lub pomiędzy grupami fosforanowymi różnych

30 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

mieszanek 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, kielkowanie 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 (Dražbo 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 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 - glukobrassicyny (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 wykorzystanie procesu fermentacji materiałów paszowych. W patencie o nr CN105494890 wynalazek ujawnia proces wykorzystujący enzymolizę i fermentację mikrobiologiczną w celu poprawy odżywczej wartości odżywczej śruty rzepakowej. Sposób charakteryzuje się tym, że: proces łączenia enzymatycznej egzogennie dodanej

5 zasadowej proteazy i dwuetapowej fermentacji mikrobiologicznej stosuje się do wytworzenia produktu fermentacji o wysokiej zawartości białka, bogatego w polipeptyd, mały peptyd, aminokwasy, kwas organiczny, probiotyki i inne składniki odżywcze i ma niską zawartość kwasu fitynowego, garbników i innych czynników antyżywnościowych. Sfermentowana śruta rzepakowa może być podawana do paszy płynnej i może częściowo zastąpić stosowanie mączki rybnej,

10 mączki sojowej i tym podobnych w żywieniu zwierząt. Ponadto, sposób dostarczony przez wynalazek przyjmuje stałą fermentację i nie wymaga sterylizacji materiału.

Z kolei w rozwiązaniu CN106720997 przedstawiono technologie enzymatycznej hydrolizy i synergii fermentacji kiszonki z kukurydzy. Za pośrednictwem synergetycznej technologii hydrolizy związku enzymatycznego i dwuetapowej biofermentacji poprzez pobieranie całych roślin

15 jako surowca, lucerny i alg jako materiałów pomocniczych.. Nowa technologia ma tę zaletę, że dzięki synergicznemu działaniu enzymolizy złożonego enzymu i fermentacji drobnoustrojów, czynniki przeciwdrożdżycze w surowcach, takich jak słoma kukurydziana, ulegają rozkładowi biologicznemu, tworząc małe cząsteczki a szkodliwe substancje, takie jak kwas fitynowy i jak są wyeliminowane; i poprzez działanie fermentacyjne bakterii z rodzaju *Lactobacillus*.

20 W rozwiązaniu znanym ze zgłoszenia CN103749959 fermentowano otręby za pomocą płynnego roztworu bakteriami *Lactobacillus*. Stosunek substancji do płynu reguluje się w stosunku 1: 0,5 do 1: 1,5, mieszaninę poddaje się fermentacji w temperaturze od 25 do 50 ° C przez 2 do 3 dni, a sfermentowaną mieszaninę suszy się i rozdrabnia w celu uzyskania stałych otrębów fermentowanych. Przyjmuje się stałą fermentację. Końcowy produkt, otręby fermentowane, ma

25 złoty kolor żółty i jest bogaty w kwas mlekowy, probiotyki a zdolność przeciwutleniająca sfermentowanych otrębów jest znacznie lepsza w porównaniu z wyjściowym surowcem. W otrębach tych nie ma kwasu fitynowego przez co przeprowadzanie tego biologicznego procesu powoduje, że fermentowane otręby są bezpieczną łatwo strawną paszą dla zwierząt, która może pobudzać spożycie paszy i poprawiać odporność zwierzęcia.

30 W patencie JPH0723725 nasiona zaszczipiano starterami pleśni koji w celu eliminacji kwasu fitynowego, przy jednoczesnym utrzymaniu aktywności witamin z grupy B i ułatwienia wchłaniania mineralów. Ziarna, takie jak odpady soi, są parzone, a następnie ochładzane jeden raz w celu doprowadzenia zawartości wilgoci w soi do takiego poziomu, aby umożliwić rozprzestrzenianie się formy koji, a powstały odpad soi został zaszczipiony pleśnią koji (*np.*

Aspergillus usami) przez jednorodne mieszanie. Następnie mieszaninę ogrzewa się w temperaturze 28-30 ° C przez określony czas w celu przeprowadzenia fermentacji i wytworzenia koji do momentu, aż kwas fitynowy w odpadach soi zostanie dostatecznie zredukowany, gdy grupa fosforanowa jest uwalniana z kwasu fitynowego i powstaje inozytol. Powstały produkt sojowy jest 5 suszony i mielony.

W innym patencie znanym z opisu WO 2016046708 przetwarzano paszę przy użyciu nowo wybranych szczepów bakterii kwasu mlekowego. Cel przetwarzania osiąga się stosując substrat pochodzenia roślinnego z kulturą starterową LAB, dominującą przez szczepy *Pediococcus acidilactici* BaltBio01 MSCL P1480 lub *Pediococcus pentosaceus* BaltBio02 MSCL PI 481 10 izolowanych z fermentowanego materiału zbożowego. Fermentacja przeprowadzana jest w warunkach beztlenowych lub tlenowych, w temperaturze 20-40 °C, w czasie od 8 h do 72 h w zależności od właściwości podłoża który został zmieszany z wodą w stosunku 1:1. Po zakończeniu fermentacji zaleca się uzyskany materiał traktować różnorodnie m.in. granulować, suszyć czy konserwować w inny sposób a następnie skarmiać zwierzętom.

15 Znane metody w jakich inokulanty, preparaty mikrobiologiczne, enzymatyczne i oraz preparaty chemiczne wprowadzane są do materiału fermentowanego pośrednio mogą wpływać na obniżenie zawartości substancji antyżywnościowych. 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 20 często powodowały poprawę części właściwości otrzymanego produktu jak i pogorszenie innych. 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 25 wydajności produkcyjnej, wykorzystania dostępnego materiału i obniżenia kosztów produkcji.

Udało się to 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 30 endo- 1,4 beta ksylanazy wpływa na całkowite zredukowanie zawartości niedostępnego w paszy fosforu w postaci fitynowej. Mając na uwadze iż przemysł biotechnologiczny i paszowy poszukuje szybkich, tanich i prostych rozwiązań technologicznych, poprawiających wartość odżywczą śruty rzepakowej, zaproponowany proces przetwarzania pozwala ponadto obniżyć koszty paszy poprzez

zastosowanie w mieszance zamiast drogiej poekstrakcyjnej śruty sojowej fermentowanej śruty rzepakowych.

Sposób redukcji fosforu fitynowego w śrucie rzepakowej poprzez fermentację z dodatkami enzymatycznymi i bakteriami 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 glukanaż 80 000U/kg, endo 1,3(4) beta glukanaż, 70 000U/kg, endo- 1,4 beta 10 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 15 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 korzystnie ilości od 0,01 do 5 %, korzystnie nie mniej niż 1% 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 od 0,01 do 5 %, korzystnie nie mniej niż 1% w stosunku do masy 20 mieszaniny śruty z wodą oraz dodatkiem multi-enzymatycznym składającym się z (endo-1,4 beta glukanaż 80 000U/kg, endo 1,3(4) beta glukanaż, 70 000U/kg, endo- 1,4 beta ksylanaza 270 000 U/kg) ilości od 0,01 do 5 %, korzystnie nie mniej niż 0,1% 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 18h, jednak nie 25 dłużej niż 30h, korzystnie 24h.

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 30 fermentatorach z tworzywa sztucznego, korzystnie plastiku lub plexi.

Jak pokazały przeprowadzone badania porównawcze w surowej śrucie rzepakowej (materiał wyjściowy) i produktach fermentacji podczas analizy fosforu fitynowego stosując metodę opisaną przez Haug i Lantzsch (1983) i 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 $P \leq 0.05$, uzyskany produkt charakteryzuje lepszą wartością pokarmową dzięki całkowitemu zredukowaniu zawartości fosforu fitynowego. Wyniki przeprowadzonych testów obrazuje poniżej tabela.

Określenie wpływu procesu fermentacji na zmiany w zawartości fosforu fitynowego i % stosunku udziału fosforu fitynowego do fosforu ogólnego materiału wyjściowego (śruty rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej. (Średnie wyniki z 4 powtórzeń prowadzonego procesu fermentacji)

10

Tabela 1. Zawartość fosforu fitynowego i % stosunku udziału fosforu fitynowego do fosforu ogólnego materiału wyjściowego (śruty rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej.

Składnik (%) w suchej masie	Poekstrakcyjna śruta rzepakowa	Fermentowana poekstrakcyjna śruta rzepakowa	P
P fit	0.61 ^a	0.00 ^b	<.0001
P fit % Pog.	51.99 ^a	0.00 ^b	<.0001

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

15

Fermentacja śruty rzepakowej całkowicie zredukowała poziom niedostępnego w paszy fosforu w postaci fitynowej

20

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

25

Sposób redukcji fosforu fitynowego w śrucie rzepakowej poprzez fermentację z dodatkami enzymatycznymi i bakteriami według wynalazku polega na tym, śrutę o zawartości białka większej niż 22%, w warunkach beztlenowych poddaje się fermentacji stałej wglębnej, 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 000U/kg, endo 1,3(4) beta glukanaż, 70 000U/kg, endo- 1,4 beta 5 ksylanaza 270 000 U/kg) w ilości 0,1% każdy 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 10 °C wymieszanej z enzymem w postaci sypkiej egzogennej 6-fitazy o 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 0.1% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą oraz mieszaniny enzymów składającej się z (endo-1,4 beta glukanaż 80 000U/kg, endo 1,3(4) beta glukanaż, 70 000U/kg, endo- 1,4 beta ksylanaza 270 15 000 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 homogennie mieszają się z mieszaniną wody i śruty w stosunku 2:1

Fermentację prowadzi się w naczyniach wybranych spośród naczyń szklanych, 20 pojemników, beczek lub fermentatorów z tworzywa sztucznego.

Jak pokazały przeprowadzone badania porównawcze w surowej śrucie rzepakowej (materiał wyjściowy) i produktach fermentacji podczas analizy fosforu fitynowego stosując metodę opisaną przez Haug i Lantzsche (1983) i obliczeń statystycznych przy pomocy programu komputerowego SAS 9.3. (USA) oraz SAS Enterprise Guide 5.1 z przyjęciem istotności różnic 25 pomiędzy grupami przy użyciu szczegółowego testu t-Studenta (dla porównania w parach) przy $P \leq 0.05$, uzyskany produkt charakteryzuje lepszą wartością pokarmową dzięki całkowitemu zredukowaniu zawartości fosforu fitynowego. Wyniki przeprowadzonych testów obrazuje poniżej tabela.

Określenie wpływu procesu fermentacji na zmiany w zawartości fosforu fitynowego i % 30 stosunku udziału fosforu fitynowego do fosforu ogólnego materiału wyjściowego (śruty rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej. (Średnie wyniki z 4 powtórzeń prowadzonego procesu fermentacji)

Tabela 1. Zawartość fosforu fitynowego i % stosunku udziału fosforu fitynowego do fosforu ogólnego materiału wyjściowego (śruty rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej.

Składnik (%) w suchej masie	Poekstrakcyjna śruta rzepakowa	Fermentowana poekstrakcyjna śruta rzepakowa	P
P fit	0.61 ^a	0.00 ^b	<.0001
P fit % Pog.	51.99 ^a	0.00 ^b	<.0001

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

5

Fermentacja śruty rzepakowej całkowicie zredukowała poziom niedostępnego w paszy fosforu w postaci fitynowej

Przykład II

- 10 Sposób redukcji fosforu fitynowego w śrucie rzepakowej poprzez fermentację z dodatkami enzymatycznymi i bakteriami według wynalazku polega na tym, że śrutę rzepakową o zawartości białka większej niż 18%, w warunkach beztlenowych poddaje się fermentacji wglębnej, 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.*
- 15 *Plantarum*, *L. Kefiri* 5.0×10^{10} cfu/g oraz mieszaniny enzymów składającej się z (endo-1,4 beta glukanażą 80 000U/kg, endo 1,3(4) beta glukanaza, 70 000U/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.
- 20 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% w stosunku do masy mieszaniny śruty z wodą oraz mieszaniny
- 25 enzymów składającej się z (endo-1,4 beta glukanażą 80 000U/kg, endo 1,3(4) beta glukanaza, 70 000U/kg, endo- 1,4 beta ksylanaza 270 000 U/kg) w ilości 0,01% każdy 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 mają postać suchą sypką i miesza się go 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 5 (materiał wyjściowy) i produktach fermentacji podczas analizy fosforu fitynowego stosując metodę opisaną przez Haug i Lantzsch (1983) i 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 $P \leq 0.05$, uzyskany produkt charakteryzuje lepszą wartością pokarmową dzięki całkowitemu 10 zredukowaniu zawartości fosforu fitynowego. Wyniki przeprowadzonych testów obrazuje poniżej tabela.

Określenie wpływu procesu fermentacji na zmiany w zawartości fosforu fitynowego i % 15 stosunku udziału fosforu fitynowego do fosforu ogólnego materiału wyjściowego (śruty rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej. (Średnie wyniki z 4 powtórzeń prowadzonego procesu fermentacji)

Tabela 1. Zawartość fosforu fitynowego i % stosunku udziału fosforu fitynowego do fosforu ogólnego materiału wyjściowego (śruty rzepakowej) i suchej fermentowanej śrucie rzepakowej.

Składnik (%) w suchej masie	Poekstrakcyjna śruta rzepakowa	Fermentowana poekstrakcyjna śruta rzepakowa	P
P fit	0.61 ^a	0.00 ^b	<.0001
P fit % Pog.	51.99 ^a	0.00 ^b	<.0001

^{a,b} wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie $P < 0.05$, P- 20 prawdopodobieństwo testowe

Fermentacja śruty rzepakowej całkowicie zredukowała poziom niedostępnego w paszy fosforu w postaci fitynowej

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