



Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Radzików

Kinga Gołębiewska

Autoreferat rozprawy doktorskiej

Żółtonasienny rzepak ozimy jako źródło białka i energii w żywieniu zwierząt monogastycznych

Praca doktorska wykonana
w Samodzielnej Pracowni Oceny Jakości Produktów Roślinnych
IHAR-PIB w Radzikowie

Promotor:

Prof. dr hab. Danuta Boros

Promotor pomocniczy:

Dr inż. Anna Fraś

Recenzenci:

Prof. dr hab. Andrzej Kotecki

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Instytut Agroekologii i Produkcji Roślinnej

Prof. dr hab. Sylwester Świątkiewicz

Instytut Zootechniki – Państwowy Instytut Badawczy w Krakowie
Zakład Fizjologii Żywienia

Radzików, 2018 rok

WPROWADZENIE

W ostatnich latach zapotrzebowanie na roślinne komponenty wysokobiałkowe do produkcji pasz wykazuje tendencję wzrostową w całej Europie (Łopaciuk i in., 2017). Główną przyczyną tego wzrostu jest wprowadzony w Europie w 2001 roku, a w Polsce w 2003 roku, bezwzględny zakaz stosowania mączek mięsno-kostnych w żywieniu zwierząt gospodarskich. Ujemny bilans białkowy w Polsce jest dodatkowo pogłębiany przez dynamicznie rozwijający się przemysł drobiarski. Eksport mięsa drobiowego w ciągu ostatniej dekady zwiększył się ponad pięciokrotnie i obecnie Polska jest liderem w produkcji mięsa drobiowego w UE. Ponadto obserwuje się wzrost popytu na pasze wysokobiałkowe w intensywnym chowie trzody chlewnej i w produkcji mleka. Prognozowane zużycie surowców wysokobiałkowych do produkcji pasz w sezonie 2017/18 wynosi ok. 4,2 mln ton i jest o ok. 6% większe niż w sezonie poprzednim. Polski rynek komponentów wysokobiałkowych od lat bazuje na imporcie. Krajowa ich produkcja w sezonie 2016/17 wyniosła nieco ponad 2 mln ton, ale rzeczywista podaż na krajowy rynek, ze względu na eksport, jest mniejsza. Popyt na białko paszowe w Polsce zaspokajany jest głównie przez importowaną śrutę sojową z soi genetycznie modyfikowanej (GM), której zużycie w sezonie 2017/18 wyniesie prawie 2,4 mln ton (Dzwonkowski i Łopaciuk, 2017). Tak duże zużycie tej śruty, jest równoznaczne z uzależnieniem od dostawców i ryzykiem zachwiania bezpieczeństwa żywnościowego kraju. Analiza bilansu paszowego w Polsce wskazuje, że w naszej strefie klimatycznej praktycznie nie ma alternatywnych pasz wysokobiałkowych mogących całkowicie zastąpić importowaną śrutę sojową. Dlatego obecnie polityka krajowa ukierunkowana jest na zwiększenie bezpieczeństwa białkowego poprzez obniżenie udziału białka importowanego do 50%. W celu zminimalizowania deficytu białka paszowego Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi opracowało projekt ustawy o zmianie ustawy o paszach, zakładający 5-letni okres moratorium na wprowadzenie zakazu stosowania pasz pochodzących z roślin GM w żywieniu zwierząt.

Spośród wszystkich surowców wysokobiałkowych najczęściej produkuje się w Polsce śruty rzepakowej (wg prognozy w sezonie 2017/18 prawie 1,6 mln ton), która przy stosunkowo niskiej cenie jest tanim źródłem białka paszowego. Pomimo rozwiązania kluczowych wyzwań żywieniowych, czyli wyhodowania odmian o obniżonej zawartości kwasu erukowego i glukozyzolanów wciąż istnieją ograniczenia w praktycznym użyciu tego surowca spowodowane innymi czynnikami antyżywnościowymi. Pełne wykorzystanie wysokowartościowego białka śruty rzepakowej w żywieniu drobiu i świń jest w dalszym ciągu ograniczone wysoką zawartością włókna pokarmowego, związków fenolowych, a także glukozyzolanów. Uważano, iż otrzymanie form żółtonasiennych jest następnym etapem prac hodowlanych ukierunkowanych na poprawę wartości pokarmowej śruty rzepakowej. Badania składu chemicznego nasion o jasnej barwie wykazały większą zawartość białka i tłuszczu w porównaniu do tradycyjnych odmian czarnonasiennych, a dużo mniejszą ligniny, jednego z głównych składników włókna rzepakowego (Słominski i in., 1994; Simbaya i in., 1995). Wyniki doświadczeń przeprowadzonych na zwierzętach monogastrycznych, w których stosowano produkty odolejania nasion form żółtonasiennych z rodzaju *Brassica* nie zawsze wykazywały poprawę parametrów produkcyjnych tych zwierząt. Niską strawność białka stwierdzono u kurcząt brojlerów i rosnących świń karmionych mieszankami paszowymi z udziałem śruty i makuchu otrzymanych z nasion rzepaku jarego bądź ozimego o zróżnicowanej barwie łuski (Smulikowska i in., 2008; Sanjayan i in., 2014).

W Polsce prace hodowlane nad wytworzeniem odmian żółtonasiennych, potrójnie ulepszonych („000”), o obniżonej zawartości kwasu erukowego, glukozyzolanów i włókna pokarmowego prowadzone są w Oddziale

Roślin Oleistych IHAR-PIB w Poznaniu. Zespół ten otrzymał pierwsze na świecie żółtonasienne linie rzepaku ozimego.

CEL PRACY

Celem badań było określenie wartości pokarmowej nowych form żółtonasiennych rzepaku ozimego w porównaniu do śruty rzepakowej o ciemnej barwie okrywy nasiennej i standardowej śruty sojowej. Oceny wartości pokarmowej żółtonasiennych form rzepaku ozimego dokonano na podstawie analiz chemicznych oraz badań biologicznych. Analizę składu chemicznego wykonano, ze szczególnym uwzględnieniem różnic w zawartości białka i składu aminokwasowego oraz włókna pokarmowego i poszczególnych jego składników pomiędzy śrutami rzepakowymi uzyskanymi z nasion o żółtej i czarnej barwie, w porównaniu do śruty sojowej. Badania biologiczne przeprowadzono w układzie modelowym na rosnących szczurach i kurczętach brojlerach. Podjęto również badania *in vitro* związane z wyjaśnieniem przyczyn niższej, w porównaniu do śruty sojowej, strawności białka śruty rzepakowej, niezależnie od koloru łuski nasion wykorzystanych do jej otrzymania oraz wskazaniem innych cech poza włóknem, których ilość powinna być znacznie obniżona lub całkowicie wyeliminowana na drodze genetyczno-hodowlanej, by ten cel osiągnąć.

W pracy sformułowano trzy hipotezy badawcze:

- Nowe formy żółtonasienne rzepaku ozimego charakteryzują się wyższą wartością pokarmową w porównaniu do tradycyjnej, czarnonasiennej śruty rzepakowej.
- Wysoka zawartość polisacharydów nieskrobiowych w śrucie rzepakowej żółtonasiennej podobnie jak w śrucie otrzymanej z nasion o czarnej barwie jest jednym z głównych czynników obniżających strawność białka tej śruty.
- W porównaniu do śruty sojowej na niską strawność białka śruty rzepakowej wpływ ma duża zawartość związków fenolowych oraz glukozynolanów.

MATERIAŁ I METODY

MATERIAŁ

Materiał badawczy składał się z:

- zestawu czterech śrut rzepakowych uzyskanych z nasion pochodzących ze zbioru w latach 2007–2009 (śruty żółtonasienne PN-022, PN-036, PN-041 oraz śruta czarnonasienna z odmiany Bojan);
- zestawu sześciu śrut uzyskanych z nasion pochodzących ze zbioru w roku 2014 (śruty żółtonasienne PN-1038, PN-1027/3i i PN-1058/6i; śruty czarnonasienne z odmian Brendy, Monolit i Konkret);
- śruty sojowej dostępnej na rynku (SBM).

Wykorzystane w pracy żółtonasienne linie rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.) zostały wyhodowane przez zespół Oddziału Roślin Oleistych IHAR-PIB w Poznaniu.

METODY

Analizy chemiczne

Suchą masę śruty, zawartość popiołu i białka oznaczono zgodnie z metodami standardowymi (Approved Methods of the AACC, 2003). Zawartość lipidów resztkowych oznaczono metodą grawimetryczną według Marchello i in. (1971). Skład aminokwasowy białka oznaczono metodą chromatografii jonowymiennej według Moore i Steina (1954), natomiast zawartość sacharozy oraz oligosacharydów (rafinozy i stachiozy) oznaczono metodą chromatografii gazowej według Bach Knudsen i Li (1991). Zawartość glukozynolanów oznaczono

metodą siliolowych pochodnych glukozynolanów na chromatografii gazowej (Michalski i in., 1995). Ogólną zawartość związków fenolowych oznaczono metodą kolorymetryczną z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu (Singleton i Rossi, 1965). Włókno pokarmowe (błonnik pokarmowy) oznaczono metodą enzymatyczno-chemiczną (TDF), tzw. Uppsalską (AACC 32-25) jako sumę nieskrobiowych polisacharydów (T-NSP), oligocukrów, kwasów uronowych oraz ligniny (Approved Methods of the AACC, 2003; AOAC, 1990). Zawartość T-NSP z podziałem na frakcję rozpuszczalną (S-NSP) i nierozpuszczalną w wodzie (I-NSP) oznaczono metodą chromatografii gazowej według Englysta i Cummingsa (1984). Zawartość ligniny oznaczono grawimetrycznie według Theandera i Westerlunda (1986), a kwasów uronowych metodą kolorymetryczną według Scotta (1979). Ponadto zawartość włókna pokarmowego oznaczono różnymi metodami grawimetrycznymi: metodą enzymatyczno-grawimetryczną (DF) wg Asp i in. (1983) z niewielką modyfikacją wg Bjerregaard i in. (1991), włókna detergentowego kwaśnego (ADF) i neutralnego (NDF) zgodnie z metodą Van Soest (1963).

Badania na zwierzętach

Doświadczenie bilansowe na szczurach

Doświadczenie to wykonano zgodnie z procedurą Egguma (1973), w układzie: 6 diet × 5 szczurów/dietę. Według tej procedury badane śruty stanowiły jedyne źródło białka, aminokwasów i włókna w dietach doświadczalnych (udział w zakresie 23–26%). Oznaczono strawność rzeczywistą białka (TPD), jego wartość biologiczną (BV) oraz wykorzystanie netto (NPU), a także strawność suchej masy (DMD).

Doświadczenie wzrostowo-bilansowe na kurczętach

Doświadczenie przeprowadzono dziesięciodniowym testem wzrostowym na 72 kogutkach brojlerach ROSS 308, w okresie od 4 do 14 dnia życia, w układzie: 9 diet × 8 ptaków/dietę. Diety doświadczalne składały się w 25% ze śruty rzepakowej (żółtonasiennej lub czarnonasiennej) lub śrutu sojowej oraz w 60% z ziarna pszenicy jarej, uzupełnione mieszanką soli i witamin oraz innymi składnikami do pełnego pokrycia zapotrzebowania kurcząt. Z każdego rodzaju śrutu przygotowano trzy diety, jedną bez enzymów, drugą z dodatkiem preparatu enzymatycznego Ronozyme® WX (R-WX) oraz trzecią z Ronozyme® VP (R-VP) i R-WX. Pierwszy z enzymów charakteryzuje się wysoką aktywnością ksylanolityczną, natomiast Ronozyme® VP jest preparatem wieloenzymatycznym, składającym się z endo-β-glukanaz, hydrolizujących wiązania 1,4 glikozydowe (a więc także celulozę) oraz pektynaz i hemicelulaz, które rozkładają inne polisacharydy roślinnych ścian komórkowych. Założono, że użycie tego preparatu spowoduje hydrolizę głównych składników włókna rzepaku i wpłynie na zwiększenie wykorzystania składników pokarmowych z diety, a w efekcie na poprawę parametrów produkcyjnych kurcząt. Kryteriami oceny efektywności dodatku preparatów enzymatycznych były spożycie diety, przyrost masy ciała, współczynnik zużycia paszy oraz retencja suchej masy, białka i składników włókna pokarmowego.

Analiza statystyczna

W pracy zastosowano następujące analizy statystyczne (Fisher, 1930; Fisher, 1947; Tukey, 1949; Kramer, 1956; Cochran i Cox, 1992):

- jednoczynnikową analizę wariancji wg modelu stałego i procedurę porównań wielokrotnych Tukeya-Kramera (skład chemiczny śrut, określenie ilości i jakości białka powiązane z różnymi frakcjami włókna, wyniki doświadczenia bilansowego na rosnących szczurach),

— dwuczynnikową analizę wariancji wg modelu stałego w układzie krzyżowym i procedurę porównań wielokrotnych Tukeya (wyniki doświadczenia wzrostowo-bilansowego na kurczętach).

Analizy statystyczne wykonano w pakiecie Statistica 9.1.

WYNIKI I DYSKUSJA

Skład chemiczny śrut rzepakowych

Badając zawartość składników pokarmowych oraz składników antyżywniowych, stwierdzono istotne różnice między śrutami rzepakowymi żółtonasiennymi a czarnonasiennymi, a także między śrutami rzepakowymi a śrutą sojową.

Składniki pokarmowe

Śruta rzepakowa jest wartościowym i wysokobiałkowym surowcem do produkcji pasz. Średnia zawartość białka w śrutach uzyskanych z nasion linii żółtonasiennych wynosiła 45,9% i była prawie o 5 jednostek procentowych większa od ilości tego składnika w śrutach czarnonasiennych (Tab. 1). Podobną różnicę w zawartości białka między śrutami żółtonasiennymi a czarnonasiennymi uzyskali Slominski i in. (2012).

Tabela 1.

Skład chemiczny śrut uzyskanych z linii rzepaku żółtonasiennego i odmian czarnonasiennych oraz sojowej [% smbt]

Śruta	Białko	Składniki mineralne	Sacharoza
Żółtonasienna	45,9 ^b	9,1 ^a	9,5 ^a
Czarnonasienna	41,1 ^c	8,2 ^{ab}	9,1 ^a
SBM	53,4 ^a	8,0 ^b	7,6 ^b
MS ¹	238,67	4,42	6,44
Statystyka F	78,38**	9,93**	17,52**

Wartości średnie z czterech lat badań; ¹MS-średni kwadrat odchyłeń; ** dla P<0,01; * dla P<0,05

Śruta sojowa jest bogatszym źródłem białka niż śruta rzepakowa, niezależnie od koloru nasion z jakich została otrzymana. W SBM ilość tego składnika wynosiła średnio 53,4% i była istotnie większa w porównaniu do jego zawartości w śrutach żółto i czarnonasiennych. Nasiona rzepaku, a przede wszystkim produkty uboczne przerobu nasion rzepaku, są bogatym źródłem składników mineralnych. W porównaniu do śrut sojowej zawierają więcej Ca, P, Mn, Mg, Fe i Cu (Khajali i Slominski, 2012). W niniejszych badaniach śruty uzyskane z linii żółtonasiennych charakteryzowały się istotnie większą zawartością składników mineralnych w porównaniu do SBM (9,1% do 8,0%). W odniesieniu do zawartości sacharozy śrut rzepakowe, bez względu na kolor nasion, z których zostały otrzymane, nie różniły się między sobą, natomiast różniły się istotnie od śrut sojowej. Średnia jej ilość w materiale uzyskanym z nasion rzepaku wynosiła 9,3%, a w SBM była o około 20% mniejsza.

Składniki antyżywniowe

W paszach, w zależności od składu surowcowego, poza niezbędnymi dla danej grupy zwierząt składnikami pokarmowymi, białko, skrobia, tłuszcz, składniki mineralne i witaminy, mogą być obecne składniki negatywnie wpływające na wskaźniki produkcyjne zwierząt. Są one określane jako składniki antyżywniowe (Borys, 2007). W niniejszej pracy w śrucie rzepakowej i sojowej określono zawartość następujących składników antyżywniowych: włókna pokarmowego wg metody Uppsalskiej, włókna detergentowego kwaśnego (ADF) i neutralnego (NDF) oraz włókna pokarmowego, oznaczonego metodą enzymatyczno-grawimetryczną (DF). Porównanie zawartości różnych rodzajów włókna pomiędzy śrutami rzepakowymi, otrzymanymi z nasion

o jasnej i ciemnej barwie oraz śrutą sojową, odzwierciedla wpływ poszczególnych składników włókna na otrzymaną wartość. W śrutach określono także zawartość związków polifenolowych, a w nasionach rzepaku oznaczono dodatkowo całkowitą ilość glukozyolanów, w tym glukozyolanów alkenowych.

We wszystkich latach największą (37,2%) zawartość włókna pokarmowego oznaczono w śrutach otrzymanych z nasion odmian czarnonasiennych (Tab. 2). W śrutach uzyskanych z nasion genotypów żółtonasiennych zawartość włókna pokarmowego była o około 8,5 jednostek procentowych mniejsza (28,8%). Zarówno śruty żółtonasienne jak i czarnonasienne różniły się istotnie pod względem zawartości włókna pokarmowego od SBM. Analiza składników włókna pokarmowego wykazała, że różnica w jego zawartości pomiędzy śrutami uzyskanymi z nasion o żółtej i czarnej barwie wynikała głównie z różnic w zawartości ligniny. Zawartość tego składnika w śrutach żółtonasiennych była 2,7 razy mniejsza niż w śrutach czarnonasiennych (odpowiednio 4,6% i 12,6%). Podobne zależności uzyskali Simbaya i in. (1995) oraz Slominski i in. (2012) w odniesieniu do śrut żółtonasiennych uzyskanych z form jarych rzepaku lub rzepiku. Zawartość ligniny w śrutach żółtonasiennych nie różniła się istotnie od zawartości w śrucie sojowej (4,6% i 3,8%). Nie zaobserwowano istotnych różnic w zawartości głównego składnika włókna pokarmowego, T-NSP, między śrutami żółtonasiennymi a czarnonasiennymi (17,5% do 17,4%). Istotnie mniejszą ilość T-NSP oznaczono w śrucie sojowej (15,2%). SBM charakteryzowała się również istotnie mniejszą zawartością kwasów uronowych, a większą oligocukrów w porównaniu do śrut rzepakowych.

Tabela 2.

Porównanie zawartości włókna pokarmowego oraz jego składników w śrutach uzyskanych z linii rzepaku żółtonasiennego i odmian czarnonasiennych oraz sojowej [% smbtł]

Śruta	S-NSP	I-NSP	T-NSP	Oligo-cukry	Kwasy uronowe	Lignina	TDF
Żółtonasienna	1,4 ^b	16,1 ^a	17,5 ^a	1,7 ^b	5,1 ^a	4,6 ^b	28,8 ^b
Czarnonasienna	1,7 ^a	15,7 ^{ab}	17,4 ^a	1,8 ^b	5,4 ^a	12,6 ^a	37,2 ^a
SBM	1,2 ^b	14,0 ^b	15,2 ^b	4,1 ^a	3,1 ^b	3,8 ^b	26,2 ^c
MS ¹	0,53	7,46	9,39	10,36	8,04	278,44	333,12
Statystyka F	9,78**	7,17**	11,05**	132,60**	25,05**	175,90**	144,74**

Wartości średnie z czterech lat badań; ¹MS-średni kwadrat odchylenia; ** dla P<0,01; * dla P<0,05

Głównymi monomerami wielocukrów wchodzącymi w skład nieskrobiowych polisacharydów we wszystkich śrutach uzyskanych z nasion rzepaku były glukoza (6,2%) i arabinoza (5,3–5,5%) (Tab. 3). W odniesieniu do zawartości tych monomerów, a także galaktozy, nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy śrutami żółtonasiennymi i czarnonasiennymi. Według Bjerregaard i in. (1997), te trzy monosacharydy wchodzą w skład arabinogalaktanów, które w rzepaku odpowiedzialne są za tworzenie niestrawnych kompleksów z białkiem. Zaobserwowano natomiast różnice w składzie monosacharydowym T-NSP między śrutami rzepakowymi, a śrutą sojową. W śrutach rzepakowych w największej ilości występowała glukoza i arabinoza, natomiast w śrucie sojowej galaktoza, glukoza i arabinoza.

Tabela 3.

Skład monosacharydowy nieskrobiowych polisacharydów ogółem (T-NSP) w śrutach rzepakowych i sojowej [% smbtł]

Śruta	Ramnoza	Fukoza	Arabinoza	Ksyloza	Mannoza	Galaktoza	Glukoza	Suma
Żółtonasienna	0,38 ^a	0,28 ^b	5,3 ^a	2,3 ^a	0,82 ^b	2,2 ^b	6,2 ^a	17,5 ^a
Czarnonasienna	0,36 ^a	0,26 ^b	5,5 ^a	2,1 ^b	0,85 ^b	2,3 ^b	6,2 ^a	17,4 ^a
SBM	0,34 ^a	0,37 ^a	2,7 ^b	1,2 ^c	1,00 ^a	5,2 ^a	4,5 ^b	15,2 ^b
MS ¹	0,004	0,02	13,06	2,27	0,05	15,83	5,42	9,39
Statystyka F	1,72	7,06**	142,65**	135,57**	9,19**	529,79**	5,32**	11,05**

Wartości średnie z czterech lat badań; ¹MS-średni kwadrat odchylenia; ** dla P<0,01; * dla P<0,05

Średnia zawartość polifenoli ogółem w śrutach żółtonasiennych wynosiła 20,4 mg/g smbtł., a w śrutach czarnonasiennych 22,2 mg/g smbtł. (Tab. 4), natomiast w śrucie sojowej była ponad 10-krotnie mniejsza (2,0 mg/g smbtł.). Badane w niniejszej pracy doktorskiej śruty żółtonasienne charakteryzowały się o około 2 mg/g smbtł. mniejszą zawartością polifenoli ogółem w porównaniu do śrut czarnonasiennych. Wyniki te są sprzeczne, z jeszcze do niedawna, powszechnym poglądem, że rzepak o żółtej barwie nasion cechuje się znacząco zredukowanym poziomem tych związków (Bell, 1993; Leckband i in., 2002; Khajali i Slominski, 2012). W literaturze znajdują się jednak doniesienia (Jiang i in., 2015), według których różnica w zawartości związków fenolowych pomiędzy śrutą żółtonasienną a czarnonasienną jest nieistotna. Smulikowska i in. (1998) podają, że ilość tanin w nasionach o ciemnej barwie okrywy wynosi 0,27%, a w nasionach o żółtej barwie 0,26%. Natomiast Akhov i in. (2009) wykazali, że nasiona o czarnej barwie w porównaniu z żółtymi charakteryzują się większą zawartością proantocyjanidyn (tanin skondensowanych), natomiast ilość flawonolu i sinapiny jest porównywalna w obu typach nasion. Według Lipsa i in. (2007) flawonoidy są polifenolami, które nie wpływają na kolor nasion. Autorzy ci wykazali bardzo słabą korelację między kolorem nasion a zawartością tych związków. Według nich słaba korelacja sugeruje, że istotna część flawonoidów nie wpływa na ciemny kolor nasion rzepaku, jednak cały czas może wykazywać działanie antyżywniowe, na przykład poprzez tworzenie niestrawnych kompleksów z białkiem.

Tabela 4.

Porównanie zawartości polifenoli ogółem i glukozyzolanów w śrutach lub nasionach rzepaku oraz w śrucie sojowej

Śruta/nasiona	Polifenole ogółem* (mg/g smbtł)	Glukozyzolanowy ($\mu\text{mol/g}$ nasion)	
		suma	alkenowe
Żółtonasienna	20,4 ^b	10,0 ^b	4,5 ^b
Czarnonasienna	22,2 ^a	15,2 ^a	10,6 ^a
SBM	2,0 ^c	—	—
MS ¹	617,47	221,88	299,47
Statystyka F	305,77**	20,50**	62,66**

Wartości średnie z czterech lat badań; ¹MS-średni kwadrat odchyżeń; ** dla P<0,01; * dla P<0,05
*Wyniki przedstawiono jako ekwiwalent kwasu sinapowego

Mimo znaczącego postępu w hodowli rzepaku, jego użyteczność paszowa jest nadal zależna od zawartości glukozyzolanów. Badane nasiona różniły się istotnie pod względem zawartości tych związków (Tab. 4). Mniejszą ilość glukozyzolanów oznaczono w nasionach o żółtej barwie (10,0 do 15,2 $\mu\text{mol/g}$), w tym alkenowych prawie 2,4-krotnie mniej (4,5 do 10,6 $\mu\text{mol/g}$). Kontynuowane są prace genetyczno-selekcyjne nad dalszym obniżeniem ich ilości w nasionach rzepaku podwójnie ulepszonych (Spasibonek i in. 2016).

Określenie ilości i jakości białka powiązanego z różnymi frakcjami włókna

Pierwszym etapem tej części badań było oznaczenie, różnymi metodami grawimetrycznymi, zawartości włókna w śrutach rzepakowych i sojowej (Tab. 5).

Tabela 5.

Zawartość włókna, oznaczonego różnymi metodami grawimetrycznymi, w badanych śrutach [% smbtł]

Śruta	ADF	NDF	DF
Żółtonasienna	10,8 ^b	17,7 ^b	28,6 ^b
Czarnonasienna	20,0 ^a	24,3 ^a	34,6 ^a
SBM	5,3 ^c	12,2 ^c	18,7 ^c
MS ¹	343,34	215,42	337,33
Statystyka F	97,32**	56,01**	116,75**

Wartości średnie z czterech lat badań; ¹MS-średni kwadrat odchyżeń; ** dla P<0,01; * dla P<0,05

Oznaczono zawartość włókna detergentowego kwaśnego (ADF) i neutralnego (NDF) oraz włókna pokarmowego metodą enzymatyczno-grawimetryczną (DF). Śruty otrzymane z odmian czarnonasiennych charakteryzowały się istotnie większą zawartością ADF (20,0% do 10,8%), NDF (24,3% do 17,7%) oraz DF (34,6% do 28,6%) niż śruty z genotypów żółtonasiennych. Natomiast w śrucie sojowej oznaczono znacznie mniejszą ilość tych frakcji, ADF 5,3%, NDF 12,2% oraz DF 18,7%. Różnice w zawartości różnych rodzajów włókna pomiędzy śrutami wynikały głównie z udziału w nich ligniny.

W kolejnym etapie badań oznaczono ilość białka związanego z ADF, NDF oraz DF. Zastosowanie metody enzymatyczno-grawimetrycznej pozwoliło na odzwierciedlenie warunków trawienia u zwierząt monogastrycznych. Podczas analizy składniki niewchodzące w skład włókna usuwane są z próbki na drodze enzymatycznej hydrolizy przez enzymy naturalnie występujące w przewodzie pokarmowym zwierząt monogastrycznych. W pozostałych, zastosowanych metodach oznacza się celulozę, pektyny, hemicelulozy oraz ligninę wraz ze związkami fenolowymi, natomiast nieoznaczane są białka strukturalne i związki mineralne związane z włóknem pokarmowym. Dlatego w niniejszym autoreferacie zamieszczono wyniki dotyczące ilości białka związanego z DF (Tab. 6). Ilość białka związanego z włóknem została wyrażona jako % białka ogółem (BO). Nie stwierdzono istotnych różnic pod względem ilości białka związanego DF między śrutami żółtonasiennymi a SBM (22,5% do 20,2%). Śruty uzyskane z odmian czarnonasiennych charakteryzowały się największą ilością białka związanego z włóknem (31,8%). Ochodzki i Rakowska (1995) podają, że w śrucie rzepakowej nawet 48% białka może być powiązana z włóknem pokarmowym.

Tabela 6.

Zawartość białka związanego z włóknem wyizolowanym metodą enzymatyczno-grawimetryczną [% BO] oraz zawartość niestrawny kompleks białkowo-polisacharydowy (NKBP) [%]

Śruta	DF	NKBP
Żółtonasienna	22,5 ^b	34,7 ^a
Czarnonasienna	31,81 ^a	34,2 ^a
SBM	20,2 ^b	25,6 ^b
MS ¹	270,21	131,47
Statystyka F	49,79**	20,14**

Wartości średnie z czterech lat badań; IMS-średni kwadrat odchyień; ** dla P<0,01; * dla P<0,05

W niniejszych badaniach przyjęto, że suma zawartości wszystkich hemiceluloz (po odjęciu zawartości ligniny od ilości DF) oraz powiązanego z nim białka stanowi niestrawny kompleks białkowo-polisacharydowy. Zawartość tego kompleksu w śrutach żółtonasiennych nie różniła się istotnie od jego ilości w śrutach czarnonasiennych (34,7% i 34,2%) (Tab. 6). Istotnie mniejszą ilością kompleksu białkowo-polisacharydowego charakteryzowała się śruta sojowa (25,6%).

Doświadczenia biologiczne

Doświadczenia biologiczne przeprowadzono na dwóch grupach zwierząt monogastrycznych: szczurach i kurczętach brojlerach. Szczury wykorzystano, jako zwierzęta modelowe dla świń, ze względu na podobną rolę bakteryjnej flory jelitowej w procesach trawienia i wchłaniania poszczególnych składników pokarmowych. Kurczęta brojlery użyto z uwagi na ich dużą wrażliwość na obecność zwiększonych ilości składników włókna pokarmowego w paszy.

Doświadczenie bilansowe na szczurach

Wyniki przedstawione w tabeli 7 wskazują brak istotnych różnic w strawności białka pomiędzy śrutami żółtonasiennymi (81,1%) a śrutą czarnonasienną (80,8%). Strawność białka wszystkich śrut rzepakowych, bez

względem koloru nasion, z których zostały uzyskane, była istotnie niższa od jego strawności w śrucie sojowej (87,9%). Śruty żółtonasienne charakteryzowały się istotnie wyższą przyswajalnością białka, mierzona wskaźnikiem BV, w porównaniu do przyswajalności białka ze śruty czarnonasiennej (97,0% do 92,9%). Przeważalność białka u szczurów karmionych dietami z udziałem śrut rzepakowych, zarówno żółtonasiennych jak i czarnonasiennej, istotnie przewyższała przyswajalność tego składnika u zwierząt, którym podawano dietę sojową (79,2%). W efekcie wykorzystanie białka netto, jako wypadkowa strawności i przyswajalności tego składnika, było istotnie wyższe we wszystkich śrutch rzepakowych (żółtonasienne 78,7%, czarnonasienna 75,1%) w porównaniu do śruty sojowej (69,6%).

Tabela 7.

Strawność suchej masy (DMD) i białka (TPD) oraz jego przyswajalność (BV) i wykorzystanie netto (NPU) w śrutch uzyskanych z rzepaku żółtonasiennego, czarnonasiennego i śrucie sojowej [%]

Śruta	DMD	TPD	BV	NPU
Żółtonasienna	90,2 ^b	81,1 ^c	97,0 ^a	78,7 ^b
Czarnonasienna	89,1 ^c	80,8 ^c	92,9 ^b	75,1 ^c
SBM	93,9 ^a	87,9 ^b	79,2 ^c	69,6 ^d
Kazeina	94,5 ^a	92,0 ^a	100,0 ^a	92,0 ^a
MS ¹	41,4	379,9	947,1	914,1
Statystyka F	68,1**	51,12**	74,21**	65,34**

¹MS-średni kwadrat odchylenia; ** dla P<0,01; * dla P<0,05

Biorąc pod uwagę około trzykrotnie niższą zawartość ligniny w śrutch żółtonasiennych, a także niższą lignifikację ścian komórkowych w rzepakach o żółtej barwie nasion (Słominski i in., 1994) spodziewano się, że białko śrut żółtonasiennych będzie lepiej trawione przez zwierzęta doświadczalne. Uzyskane wyniki wskazują, że czynniki odpowiedzialne za niską strawność białka w śrucie rzepakowej czarnonasiennej pozostają niezmiennione w śrucie żółtonasiennej.

Doświadczenie wzrostowo-bilansowe na kurczętach

Na podstawie składu chemicznego wyliczono wartość energii metabolicznej (AME_n) śrut rzepakowych i śruty sojowej dla drobiu (Normy żywienia drobiu, 2005). Największą wartość AME_n miała śruta sojowa (9,18 MJ/kg), a najmniejszą śruty czarnonasienna (7,90 MJ/kg). Wartość energii metabolicznej śrut żółtonasiennych wynosiła 8,74 MJ/kg.

Dwuczynnikowa analiza wariancji wykazała, że rodzaj śruty (zastosowanego źródła białka) miał istotny wpływ na wszystkie parametry produkcyjne kurcząt brojlerów oraz na strawność suchej masy (DMD), retencję białka (APR), współczynniki strawności pozornej składników włókna pokarmowego- nieskrobiowych polisacharydów (AD-NSP) i kwasów uronowych (AD-UA) (Tab. 8 i 9). Nie stwierdzono istotnych różnic w parametrach produkcyjnych kurcząt karmionych dietami pszennymi z dodatkiem śruty rzepakowej żółto bądź czarnonasiennej. Stwierdzono natomiast wysoce istotne różnice w parametrach produkcyjnych kurcząt brojlerów, które karmiono dietami pszennymi z udziałem śrut rzepakowych i śruty sojowej (Tab. 8). Kurczęta na diecie sojowej jadły o 58% więcej, ponad dwukrotnie lepiej przyrosły na wadze i zużyły o 47% mniej diety na jednostkę przyrostu masy ciała. Poza lepszym wykorzystaniem diety, nie zaobserwowano istotnej poprawy parametrów produkcyjnych kurcząt pod wpływem dodatku preparatów enzymatycznych, których aktywność jest ukierunkowana na hydrolizę składników włókna pokarmowego. Stwierdzono istotne różnice w strawności suchej masy u kurcząt karmionych dietami z udziałem śruty rzepakowej czarnonasiennej (74,8%) a sojowej (77,5%), a w odniesieniu do retencji białka pomiędzy ptakami karmionymi dietami z udziałem śruty rzepakowej żółtonasiennej (69,6%) a sojowej (66,5%) (Tab. 9). Nie zaobserwowano natomiast różnic pod względem tych

cech, a także AD-NSP, u kurcząt którym podawano diety z udziałem śrut rzepakowych. Najwyższy współczynnik strawności pozornej kwasów urnowych stwierdzono u kurcząt otrzymujących dietę ze śrutą rzepakową żółtonasienną (33,5%).

Tabela 8.

Wpływ rodzaju śruty i dodatku enzymów na parametry produkcyjne kurcząt karmionych dietami pszennymi				
Dieta (D)	Dodatek enzymów (E)	Spożycie diety g/ptaka/10 dni	Przyrost masy ciała g/ptaka/10 dni	Wykorzystanie diety (g/g przyrostu)
Pszenna + YRSM	bez enzymu	228	100,5	2,310
	R-WX	227	100,8	2,300
	R-VP + R-WX	231	107,5	2,158
Pszenna + BRSM	bez enzymu	231	99,1	2,372
	R-WX	219	95,6	2,341
	R-VP + R-WX	230	115,1	2,054
Pszenna + SBM	bez enzymu	357	229,9	1,566
	R-WX	364	240,4	1,530
	R-VP + R-WX	369	248,4	1,497
Wartości średnie dla efektów głównych:				
dieta (D)	YRSM	229 ^b	102,9 ^b	2,256 ^a
	BRSM	227 ^b	103,3 ^b	2,256 ^a
	SBM	363 ^a	239,6 ^a	1,531 ^b
dodatek enzymu (E)	bez enzymu	272	143,2	2,083 ^a
	R-WX	270	145,6	2,057 ^{ab}
	R-VP + R-WX	277	157,0	1,903 ^b
Statystyka F				
	Dieta (D)	70,27**	125,51**	84,38**
	Dodatek enzymów (E)	0,14	1,10	4,54*
	D × E	0,09	0,15	0,86

YRSM-śruta rzepakowa żółtonasienna; BRSM-śruta rzepakowa czarnonasienna; ** dla P<0,01; * dla P<0,05

Tabela 9.

Wpływ rodzaju śruty i dodatku enzymów na DMD, APR oraz współczynniki strawności pozornej nieskrobiowych polisacharydów (AD-NSP) i kwasów uronowych (AD-UA) u kurcząt karmionych dietami pszennymi [%]

Dieta	Dodatek enzymów	DMD	APR	AD-NSP	AD-UA
Pszenna + YRSM	bez enzymu	76,4	69,5	41,4	27,4
	R-WX	75,6	69,7	46,9	37,6
	R-VP + R-WX	76,2	69,8	44,4	35,6
Pszenna+ BRSM	bez enzymu	74,5	67,8	43,4	25,5
	R-WX	76,0	69,5	47,3	27,2
	R-VP + R-WX	74,0	69,0	49,9	21,7
Pszenna + SBM	bez enzymu	76,3	65,1	29,7	25,3
	R-WX	77,9	67,0	34,5	24,6
	R-VP + R-WX	78,1	67,3	35,3	26,0
Wartości średnie dla efektów głównych:					
dieta (D)	YRSM	76,1 ^{ab}	69,6 ^a	44,2 ^a	33,5 ^a
	BRSM	74,8 ^b	68,8 ^{ab}	46,9 ^a	24,8 ^b
	SBM	77,5 ^a	66,5 ^b	33,2 ^b	25,3 ^b
dodatek enzymów (E)	bez enzymu	75,7	67,5	38,2 ^b	26,0
	R-WX	76,1	68,7	42,9 ^a	29,6
	R-VP + R-WX	76,5	68,8	43,2 ^a	28,2
Statystyka F					
	Dieta (D)	6,41**	4,16*	30,80**	7,47**
	Dodatek enzymów (E)	0,56	0,82	4,62*	1,11
	D × E	1,13	0,18	0,345	1,390

YRSM-śruta rzepakowa żółtonasienna; BRSM-śruta rzepakowa czarnonasienna; ** dla P<0,01; * dla P<0,05

WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych w niniejszej rozprawie badań i analiz sformułowano następujące wnioski:

1. Śruty otrzymane z linii żółtonasiennych rzepaku ozimego charakteryzują się istotnie większą ilością białka oraz obniżoną zawartością włókna pokarmowego w porównaniu do śrut czarnonasiennych. Poziom włókna pokarmowego w śrutach żółtonasiennych jest porównywalny do jego ilości w śrucie sojowej.
2. Różnica w zawartości włókna pokarmowego pomiędzy śrutami żółto i czarnonasiennymi wynika tylko z zawartości ligniny.
3. Zawartość nieskrobiowych polisacharydów, głównego składnika włókna pokarmowego rzepaku, w obu rodzajach śrut nie różni się istotnie.
4. Zawartość arabinozy, galaktozy i glukozy, monosacharydów będących składnikami arabinogalaktanów, które w rzepaku najczęściej tworzą kompleksy z białkiem, w śrutach żółtonasiennych i czarnonasiennych jest taka sama.
5. Śruty żółtonasienne i czarnonasienne charakteryzują się zbliżoną zawartością polifenoli oraz glukozynolanów.
6. Badania *in vitro* i *in vivo* na szczurach i kurczętach brojlerach wykazały, że oba rodzaje śruty nie różnią się istotnie pod względem strawności białka i jest ona dalej znacznie niższa w porównaniu do strawności białka śruty sojowej.
7. Suplementowanie mieszanek paszowych z udziałem śruty rzepakowej enzymami jest bardziej skuteczne przy stosowaniu mieszanin kilku enzymów. Niezbędnym jest opracowanie i otrzymanie enzymów dostosowanych do śruty rzepakowej, hydrolizujących arabiniany, arabinogalaktany, galaktany, galaktomannany, mannany i polisacharydy pektynowe oraz ich kompleksy z białkami.
8. Niezbędne są dalsze prace genetyczno-hodowlane celem poprawy wartości pokarmowej śruty rzepakowej nakierowane na obniżenie zawartości nieskrobiowych polisacharydów, polifenoli i glukozynolanów.

LITERATURA

- Akhov L., Ashe P., Tan Y., Datta R., Selvaraj G. 2009. Proanthocyanidin biosynthesis in the seed coat of yellow-seeded, canola quality *Brassica napus* YN01-429 is constrained at the committed step catalyzed by dihydroflavonol 4-reductase. *Botany*, 87 (6), 616-625.
- Approved Methods of the AACC. 2003. AACC Method 44-15A, 32-25, 76-13, 32-05, 32-07, American Association of Cereal Chemists Inc., St. Paul, Minnesota, USA.
- AOAC. 1990. Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis, 15th Edition. Arlington, Virginia, USA. Procedure No. 955.04, 923.03, 996.11, 994.13, 962.09, 985.29, 991.43.
- Asp N.G., Johansson C.G., Hallmer H., Siljestroem M. 1983. Rapid enzymic assay of insoluble and soluble dietary fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31(3), 476-482.
- Bach Knudsen K.E., Li B.W. 1991. Determination of oligosaccharides in protein-rich feedstuffs by gas-liquid chromatography and high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 689-694.
- Bell J.M. 1993. Factors affecting the nutritional value of canola meal: A review. *Canadian Journal of Animal Science*, 73, 679-697.
- Bjergegaard C., Eggum B.O., Jensen S.K., and Sørensen H. 1991. Dietary fibres in oilseed rape: Physiological and antinutritional effects in rats of isolated IDF and SDF added to a standard diet. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 66, 69-79.
- Bjergegaard C., Sørensen H., Sørensen S. 1997. Dietary fibres and associated compounds in rape seed and biorefined rape seed products compared to DF in pea. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 6(2), 163-184.
- Borys B. 2007. Substancje antyżywnieniowe w paszach roślinnych dla kóz. *Wiadomości zootechniczne*, 45, 1-2, 55-65.
- Cochran W.G., Cox G.M. 1992. *Experimental design*. John Wiley & Sons Inc., Hoboken, USA.

- Dzwonkowski W., Łopaciuk W. 2017. Popyt krajowy na surowce paszowe i produkcja pasz przemysłowych. Rynek Pasz stan i perspektywy, 22-27.
- Eggum B.O. 1973. A study of certain factors influencing protein utilization in rats and pigs. 406. Beretning. Udgivet af Statens Husdyrbrugsudvalg, Copenhagen, Denmark, 10-30.
- Englyst H.N., Cummings J.H. 1984. Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*, 109, 937-942.
- Fisher R.A. 1930. *Statistical Methods for Research Workers*. Oliver and Boyd, Edinburgh, UK.
- Fisher R.A. 1947. *The design of experiments*. Oliver and Boyd, Edinburgh, UK.
- Jiang J., Wang Y., Xie T., Rong H., Li A., Fang Y., Wang Y. 2015. Metabolic characteristics in meal of black rapeseed and yellow-seeded progeny of *Brassica napus*–*Sinapis alba* hybrids. *Molecules*, 20(12), 21204-21213.
- Khajali F., Slominski B.A. 2012. Factors that affect the nutritive value of canola meal for poultry. *Poultry Science*, 91 (10), 2564-2575.
- Kramer C.Y. 1956. Extension of Multiple Range Tests to Group Means with Unequal Numbers of Replications. *Biometrics*, 12, 309-310.
- Leckband G., Frauen M., Friedt W. 2002. NAPUS 2000. Rapeseed (*Brassica napus*) breeding for improved human nutrition. *Food Research International*, 35 (2-3), 273-278.
- Lipsa F.D., Snowdon R., Friedt W. 2007. Improving rapeseed meal quality by reduction of condensed tannins. Proceedings, 10th International Rapeseed Congress, 26-30 March, 2007, Wuhan, China.
- Łopaciuk W., Bodył M., Dzwonkowski W. 2017. Sytuacja na światowych rynkach surowców paszowych i pasz przemysłowych. Rynek Pasz stan i perspektywy, 6-18.
- Marchello J.A., Dryden F.D., Hale W.H., 1971. Bovine serum lipids. I. The influence of added animal fat on the ration. *Journal of Animal Science*, 32 (5), 1008-1015.
- Michalski K., Kołodziej K., Krzymański J. 1995. Quantitative analysis of glucosinolates in seeds of oilseed rape. Effect of sample preparation on analytical results. Proceedings, 9th International Rapeseed Congress, 9-11 July 1995, Cambridge, UK, 1, 6-8.
- Moore S., Stein W.H. 1954. Procedures for the chromatographic determination of amino acids on four percent gross-linked sulfonated polystyrene resins. *Journal of Biological Chemistry*, 211, 893-906.
- Ochodzki P., Rakowska M. 1995. Does the protein bound to dietary fibre influence the nutritional value of rapeseed meals? Proceedings, 9th International Rapeseed Congress, 4-7 July 1995, Cambridge, UK, 1, 206-208.
- Sanjayan N., Heo J. M., Nyachoti C. M. 2014. Nutrient digestibility and growth performance of pigs fed diets with different levels of canola meal from *Brassica napus* black and *Brassica juncea* yellow. *Journal of Animal Science*, 92(9), 3895-3905.
- Scott R. 1979. Colorimetric determination of hexuronic acids in plant materials. *Analytical Chemistry*, 51, 936-941.
- Simbaya J., Slominski B.A., Rakow G., Campbell L.D., Downey R.K., Bell J.M. 1995. Quality characteristics of yellow-seeded *Brassica* seed meals: Protein, carbohydrate, and dietary fiber components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(8), 2062-2066.
- Singleton V.L., Rossi J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16 (3), 144-158.
- Slominski B.A., Campbell L.D., Guenter W. 1994. Carbohydrates and dietary fiber components of yellow- and brown-seeded canola. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(3), 704-707.
- Slominski B.A., Jia W., Rogiewicz A., Nyachoti C.M., Hickling D. 2012. Low-fiber canola. Part 1. Chemical and nutritive composition of the meal. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 60, 12225-12230.
- Smulikowska, S., Pastuszewska, B., Ochtabińska, A., Mieczkowska, A. 1998. Composition and nutritional value for chickens and rats of seeds, cake and solvent meal from low-glucosinolate yellow-seeded spring rape and dark-seeded winter rape. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 7(4), 415-428.
- Smulikowska S., Świąch E., Czerwiński J. 2008. Wartość paszowa żółtonasiennych roślin oleistych z rodzaju *Brassica* dla drobiu i świń. *Rośliny Oleiste-Oilseed Crops*, 29(2), 231-243.
- Spasibonek S., Matuszczak M., Piętka T., Krótka K. 2016. Możliwości dalszego obniżania zawartości glikozynolanów w nasionach rzepaku podwójnie ulepszanego (*Brassica napus* L.). *Rośliny Oleiste-Oilseed Crops*, 37, 21-36.
- Theander O., Westerlund E.A. 1986. Studies on dietary fiber. 3. Improved procedures for analysis of dietary fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34 (2), 330-336.
- Tukey J. 1949. Comparing Individual Means in the Analysis of Variance. *Biometrics*, 5 (2), 99-114.
- Van Soest P.J. 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists*, 13, 5, 825-835.
- Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz. Normy żywienia drobiu (2005). Praca zbiorowa pod red. S. Smulikowskiej i A. Rutkowskiego. Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN, Jabłonna. Polski Oddział Światowego Towarzystwa Wiedzy Drobiarskiej (WPSA).