UNIWERSYTET WARMIŃSKO-MAZURSKI W OLSZTYNIE

WYDZIAŁ BIOINŻYNIERII ZWIERZĄT

ROZPRAWA DOKTORSKA

mgr inż. Magdalena Anna Orlich

Nr albumu: 1508

Efektywność stosowania uszlachetnionego makuchu rzepakowego w żywieniu kur nieśnych

Rozprawa doktorska wykonana

w Katedrze Drobiarstwa i Pszczelnictwa

Promotor: dr hab. Aleksandra Drażbo

Olsztyn, 2023

UNIVERSITY OF WARMIA AND MAZURY IN OLSZTYN

FACULTY OF ANIMAL BIOENGINEERING

PHD THESIS

Magdalena Anna Orlich, MSc

Student no.: 1508

Effectiveness of using treated rapeseed cakes in laying hens

Dissertation thesis perfotmed

in the Department of Poultry Science and Apiculture

Supervisor: Aleksandra Drażbo, DSc

Olsztyn, 2023

`

Podstawę dysertacji stanowią następujące prace naukowe:

1. **Kopacz, M.,** Drażbo, A.A., Śmiecińska, K., Ognik, K. Performance and Egg Quality of Laying Hens Fed Diets Containing Raw, Hydrobarothermally-Treated and Fermented Rapeseed Cake. Animals 2021, 11, 3083. https:// doi.org/10.3390/ani11113083 (IF: 3,231, 100 pkt.),
2. **Orlich M.,** Drażbo A., Ognik K., Rogiewicz A., Juśkiewicz J. The effect of raw, hydrobarothermally treated and fermented rapeseed cake on plasma biochemical parameters, total tract digestibility and gut function in laying hens. Annals of Animal Science 2023. DOI: 10.2478/aoas-2023-0040 (IF: 2,667, 140 pkt.).

`

SPIS TREŚCI

SKRÓTY.....5

1. WSTĘP I PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA.....5

2. HIPOTEZA I CEL BADAŃ.....10

2.1. Hipoteza badawcza: 10

2.2. Cel badań: 10

3. MATERIAŁ I METODY 11

3.1. Makuch rzepakowy.....11

3.2. Ptaki i warunki utrzymania.....11

3.3. Wyniki produkcyjne kur nieśnych 12

3.4. Jakość jaj.....13

3.5. Skład kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu w żółtku jaja.....13

3.6. Status oksydacyjny żółtek jaj 14

3.7. Analiza sensoryczna jaj kurzych 14

3.8. Badanie strawnościowe.....14

3.9. Analiza biochemiczna krwi.....15

3.10. Wskaźniki funkcjonowania przewodu pokarmowego u kur nieśnych.....16

3.11. Analiza statystyczna.....16

4. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ 17

5. DYSKUSJA 21

6. PODSUMOWANIE 30

7. PIŚMIENNICTWO.....32

8. STRESZCZENIE 44

9. SUMMARY 46

10. TABELE.....48

`

SKRÓTY

AA – kwas arachidowy

ALB – albuminy

ALP – fosfataza alkaliczna

ALT –aminotransferaza alaninowa

AME_N – energia metaboliczna

ANF – związki antyżywieniowe

AST –aminotransferaza asparaginianowa

BIL – bilirubina

BS – białko surowe

Ca – wapń

CAT – katalaza

CREAT – kreatynina

Cu – miedź

DHA – kwas dokozaheksaenowy

EB – energia brutto

FAME – estry metylowe kwasów tłuszczowych

FCR – współczynnik wykorzystania paszy

Fe – żelazo

FF – fosfor fitynowy

FRC – grupa doświadczalna z wykorzystaniem fermentowanego makuchu rzepakowego

GGT – transpeptydaza gamma-glutamylowa

GLB – globuliny

GLS – glukozynolany

GSH/GSSG – glutation całkowity

HRC – grupa doświadczalna z wykorzystaniem makuchu rzepakowego poddanego obróbce hydrobarotermicznej

JH – jednostki Haugha

LDH – dehydrogenaza mleczanowa

LOOH – stężenie nadtlenków lipidów

MDA – dialdehyd malonowy

Mg – magnez

N – azot

NSP – polisacharydy nieskrobiowe

P – fosfor

PS – popiół surowy

PSR – grupa doświadczalna z wykorzystaniem poekstrakcyjnej śruty rzepakowej

PSS – poekstrakcyjna śruta sojowa

PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe

RRC – surowy makuch rzepakowy

SCFA – krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe

SM – sucha masa

SOD – dysmutaza ponadtlenkowa

T3 – trójjodotyronina

T4 – tyroksyna

TAG – triacyloglicerol

TBA – kwas tiobarbiturowy

TC – cholesterol całkowity

TMA – trimetyloamina

TiO_2 – dwutlenek tytanu

TP – białko całkowite

TS – tłuszcz surowy

UA – kwas moczowy

UREA – mocznik

Zn – cynk

1. WSTĘP I PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA

Poekstrakcyjna śruta sojowa (PSS) jest obecnie głównym źródłem białka paszowego wykorzystywanym w żywieniu zwierząt gospodarskich, stosowanym również w dietach dla kur nieśnych. Specyficzne wymagania klimatyczne soi sprawiają jednak, że światowe zapotrzebowanie na białko paszowe jest zaspokajane przez import PSS z ograniczonej liczby krajów. Ze względu na wysokie ceny, zmienną podaż, a także obawy związane ze stosowaniem pasz genetycznie modyfikowanych, od lat poszukuje się alternatywnych, najlepiej rodzimych źródeł białka roślinnego, takich jak poekstrakcyjna śruta rzepakowa (PSR) czy makuch rzepakowy. Według Organizacji Narodów Zjednoczonych ds. Wyżywienia i Rolnictwa (FAO 2020), w sezonie 2019/2020 światowa produkcja nasion oleistych wynosiła 584,3 miliona ton, w tym 69,2 miliona ton rzepaku, który jest szeroko wykorzystywany zarówno w produkcji artykułów spożywczych, jak i paszowych. W przemyśle paszowym wykorzystywane są najczęściej produkty uboczne powstające podczas tłoczenia oleju rzepakowego, takie jak śruta poekstrakcyjna czy makuch. Według Angelovičová i Angelovič (2013) makuch rzepakowy, podobnie jak poekstrakcyjna śruta rzepakowa (PSR) może być bardzo wartościowym składnikiem diety dla kur nieśnych. Technologia wytłaczania oleju, podczas której powstaje makuch rzepakowy jest tańsza i bardziej przyjazna dla środowiska, niż ekstrakcja rozpuszczalnikami organicznymi związana z powstawaniem PSR, co przekłada się na korzystniejszą cenę makuchu, niż PSR na rynku paszowym. Dodatkowo, w porównaniu z PSR, makuch rzepakowy ma w swoim składzie więcej oleju, a w konsekwencji charakteryzuje się wyższą koncentracją energii metabolicznej (AME_N), zawiera do 400 g/kg białka ogólnego (BS) oraz wysokie ilości naturalnych przeciwutleniaczy (Smulikowska i wsp., 2006; Jakobsen i wsp., 2015; Kopacz i wsp., 2021). Pozostały w makuchu olej rzepakowy jest bogaty w wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) omega-3 (ok. 8-9%) oraz omega-6 (ok. 20-24%) i według wielu autorów (Bedekovic i wsp., 2014; Faitarone i wsp., 2016) może zwiększać zawartość tych kwasów w żółtku jaja, poprawiając ich właściwości prozdrowotne. Olej rzepakowy zawiera również związki bioaktywne, takie jak witamina E, związki fenolowe, flawonoidy, fitosterole i inne przeciwutleniacze, które przynoszą korzyści zdrowotne dla ludzi i zwierząt (Szydłowska-Czerniak, 2013).

Niestety szersze wykorzystanie makuchu rzepakowego w diecie drobiu jest ograniczone przez obecność w nim wysokich stężeń czynników antyżywieniowych (ANF), takich jak polisacharydy nieskrobiowe (NSP), glukozynolany (GLS), kwas fitynowy, synapina czy taniny

(Chibowska i wsp., 2000; Kocher i wsp., 2000). NSP obniżają wykorzystanie składników odżywczych z diety, zwłaszcza białka, energii i fosforu (Knudsen, 1997). Drób nie wytwarza enzymów endogennych zdolnych do trawienia NSP, a według Jia i wsp. (2012), ich całkowita strawność w dietach na bazie kukurydzy i PSR jest znikoma i w przypadku kur nieśnych wynosi 2%, dorosłych kogutów 4%, a kurcząt brojlerów 8%. Wysoki poziom NSP w diecie drobiu może stymulować rozwój i aktywność mikroflory jelitowej, zwiększać lepkość treści w jelicie cienkim, co w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia tempa przepływu pokarmu i wykorzystania składników odżywczych (Kocher i wsp., 2000; Zduńczyk i wsp., 2013). Recoules i wsp. (2009) podaje, że niższa strawność białka rzepakowego może wynikać z wiązania protein z frakcjami włókna pokarmowego oraz odporności protein rzepaku, w tym krucyferyny, na proteolizę przez fizjologiczne enzymy trawienne. Z badań Boros i Gołębiewskiej (2019) wynika jednak, że krucyferyna cechuje się wysoką strawnością, a za niską strawność białka śruty rzepakowej odpowiedzialne są składniki niebiałkowe.

Pasze rzepakowe zawierają dość dużo fosforu, podobnie jak innych składników mineralnych, najczęściej są one jednak związane z kwasem fitynowym, a wskutek tego słabo przyswajalne dla drobiu. Dlatego w dietach ptaków należy stosować fitazy lub fosfor nieorganiczny (Lim i wsp., 2003; Kozłowski i wsp., 2011). GLS to główne związki antyodżywcze w rzepaku, a produkty ich rozkładu mają najczęściej negatywny wpływ na zdrowie i produkcyjność ptaków. Związki te są odporne na obróbkę cieplną, ale łatwo ulegają hydrolizie enzymatycznej w obecności mirozynazy, enzymu odpowiedzialnego za niszczenie wiązań glikozydowych. Prowadzi to do powstawania produktów rozkładu GLS, w tym izotiocyjanianów, które zmniejszają pobranie paszy, powodując pogorszenie wyników wzrostowych i produkcyjnych, zwiększają śmiertelność ptaków, ponadto zmniejszają produkcję jaj oraz ich masę (Tripathi i Mishra, 2007; Drażbo i wsp., 2018b; Zhu i wsp., 2018a). Negatywny wpływ GLS na produkcyjność ptaków związany jest w dużym stopniu z zaburzeniami pracy tarczycy, która ulega powiększeniu i wydziela mniej hormonów, trójjodotyroniny (T3) i tyroksyny (T4), co zakłóca równowagę między ich stężeniem (Ahmadi, 2016). Z powodu odkładającej się w żółtku trimetyloaminy (TMA), produktu bakteryjnej fermentacji choliny w jelicie grubym ptaków, produkty rzepakowe stosowane w diecie kur nieśnych mogą przyczyniać się również do występowania rybiego zapachu jaj (Ward i wsp., 2009). Goitryna, czynnik antyodżywczy (ANF) powstający w wyniku rozpadu GLS, hamuje utlenianie TMA do bezwonnych związków, co powoduje rybi posmak w jajach znoszonych przez genetycznie podatne ptaki, w szczególności nioski pochodzące od rasy Rhode Island Red (Fenwick i wsp., 1984; Mawson i wsp., 1995). Ponieważ GLS są najbardziej toksycznymi

związkami występującymi w nasionach rzepaku, ich zawartość w paszach dla drobiu nie powinna przekraczać 2,5 µmol/g (Feng i Zuo, 2007a; Yadav i wsp., 2022). Według Tripathi i Mishra (2007), negatywny wpływ GLS jest bardziej wyraźny u kur niosek, niż u kurcząt brojlerów ze względu na dłuższy okres odchowu w przypadku tych pierwszych.

Rosnące zapotrzebowanie na krajowe pasze białkowe dla drobiu powoduje, że od lat stosuje się różne zabiegi uszlachetniające, mające na celu poprawić wartość pokarmową pasz rzepakowych. Głównym celem jest zmniejszenie zawartości niektórych ANF, co można osiągnąć za pomocą obróbki fizycznej, chemicznej i biologicznej komponentów paszowych lub poprzez modyfikację praktyk hodowlanych (Dänicke i wsp., 1998; Feng i Zuo, 2007a; Kozłowski i Jeroch, 2014). Wielu autorów w swoich badaniach wykazało, że obróbka termiczna skutecznie dezaktywuje mirozynazę i zmniejsza poziom GLS w paszach rzepakowych, poprawiając ich wartość odżywczą dla zwierząt monogastrycznych, w tym drobiu (Smulikowska i wsp., 2006; Newkirk i Classen, 2002; Milošecić i wsp., 2011). Dotychczas brakuje jednak informacji na temat wykorzystania komponentów paszowych poddanych obróbce hydrotermicznej w diecie kur nieśnych, zwłaszcza pod względem ich wpływu na funkcjonowanie przewodu pokarmowego. Lichovníková i wsp. (2000) i Sasyte i wsp. (2017) zaobserwowali, że ekstrudowane pasze rzepakowe wprowadzone do diety kur nieśnych nie pogarszają wyników produkcyjnych, wpływając pozytywnie na strawność tłuszczu i retencję azotu u ptaków. Niewiele wiadomo jednak o innych metodach obróbki termicznej, poprawiających wartość odżywczą pasz rzepakowych stosowanych w żywieniu kur nieśnych.

Fermentacja jest metodą, która od dawna jest stosowana w celu poprawy wartości pokarmowej surowców paszowych, w tym rzepaku, w diecie zwierząt (Vig i Walia, 2001; Chiang i wsp., 2010; Zaworska i wsp., 2016; Drażbo i wsp., 2018a). Poprawia smakowitość paszy, wpływa korzystnie na przyswajanie niektórych składników odżywczych oraz zmniejsza koncentrację niepożądanych ANF w komponentach paszowych. Według Gao i wsp. (2020), w zależności od zastosowanego inokulantu oraz warunków procesu, fermentacja PSR może wpłynąć na redukcję związków alifatycznych (o 57,7%), GLS indolowych (o 97,3%), oligosacharydów (o 73%), ligniny i NDF (o 25%) oraz kwasu fitynowego (o 86%). Jednak skuteczność fermentowanych pasz rzepakowych w żywieniu kur nieśnych nie była dotąd badana. Dotychczasowe badania wskazują, że fermentowane pasze mogą korzystnie wpływać na wyniki produkcyjne i jakość jaj kurzych. Engberg i wsp. (2009) podają, że podawanie fermentowanej mieszanki pełnoporcjowej kurom nieśnym pozytywnie wpływa na masę jaja i jakość skorupy. Z kolei w badaniach Zhu i wsp. (2020) wykazano, że dodatek fermentowanych pasz na bazie kukurydzy, śruty bawełnianej oraz PSR może poprawić

nieśność, status oksydacyjny i odporność u kur niosek. W badaniach Drażbo i wsp. (2019) przeprowadzonym na indyczkach rzeźnych wykazano, że wprowadzenie do diety ptaków 15% udziału fermentowanego makuchu rzepakowego (FRC) nie wpłynęło negatywnie na wskaźniki wzrostowe zwierząt, miało natomiast korzystniejszy wpływ na jakość mięsa piersiowego, niż mieszanka paszowa, w której jedynym źródłem białka była PSS. Dotychczasowe doświadczenia prowadzone na drobiu rzeźnym wykazały również, że FRC może wpływać na poprawę wyników odchowu, wskaźników statusu zdrowotnego i morfologii jelit u kurcząt brojlerów i indyków rzeźnych (Feng i wsp., 2007b; Hu i wsp., 2016; Drażbo i wsp., 2018b). Pasze fermentowane charakteryzują się zwykle wyższą liczbą bakterii kwasu mlekowego, wyższym stężeniem wybranych krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) i niższymi wartościami pH w porównaniu z komponentami surowymi, dzięki czemu wpływają korzystnie na morfologię i funkcjonowanie przewodu pokarmowego ptaków modulując ekosystem mikroorganizmów jelitowych u drobiu (Hu i wsp., 2016; Goodarzi Boroojeni i wsp., 2018; Drażbo i wsp., 2020; Lv i wsp., 2020). Bakterie probiotyczne zawarte w paszach fermentowanych mogą obniżać pH jelit poprzez produkcję SCFA oraz dzięki wydzielaniu substancji przeciwbakteryjnych - hamować kolonizację jelit przez bakterie chorobotwórcze (Sugiharto i Ranjitkar, 2019). W badaniu przeprowadzonym przez Elbaz (2021), fermentowana śruta rzepakowa zwiększyła strawność składników pokarmowych u kurcząt brojlerów, najprawdopodobniej ze względu na zmniejszenie ilości patogennej mikroflory w jelitach, co pozytywnie wpłynęło na wchłanianie składników odżywczych i zwiększyło wartość odżywczą PSR. Z kolei badania Drażbo i wsp. (2020), wykazały, że proces fermentacji poprawił wartość odżywczą makuchu rzepakowego i wywarł korzystny wpływ na stężenie SCFA i aktywność bakteryjnych enzymów glikolitycznych. Rozwój korzystnej mikroflory jelitowej u ptaków umożliwia im wykorzystanie pełnego potencjału genetycznego, a w konsekwencji zwiększenie wydajności. Pasze charakteryzujące się wysoką strawnością i biodostępnością składników odżywczych przyczyniają się do optymalizacji produkcji drobiu. Podczas fermentacji mikroorganizmy wytwarzają kwas mlekowy, który pomaga w trawieniu innych diet zawierających białko, a także biosyntetyzują pewne enzymy, które są niezbędne w procesie trawienia (Dahiya i Nigam, 2022). W ten sposób fermentowane pasze pozytywnie wpływają na funkcjonowanie jelit, a w konsekwencji na stan zdrowia drobiu.

W dostępnej literaturze brak jest jednoznacznych wskazań co do optymalnego udziału produktów rzepakowych w diecie kur nieśnych. Według niektórych autorów udział rzepaku nie powinien przekraczać 10%, podczas gdy w innych badaniach diety zawierające 20% rzepaku nie miały negatywnego wpływu na wskaźniki produkcyjne niosek oraz jakość jaj (Thomas

i wsp., 1978; Mawson i wsp., 1994; Jia i wsp., 2008; Khajali i Slominski, 2012; Savary i wsp., 2019). Dotychczasowe badania wykazały również, że poddane obróbce hydrotermicznej oraz fermentacji składniki paszy mają pozytywny wpływ na funkcjonowanie przewodu pokarmowego i wydajność drobiu rzeźnego (Chiang i wsp., 2010; Ahmed i wsp., 2014; Drażbo i wsp., 2018b). Zważywszy na fakt, że Polska jest jednym z największych eksporterów jaj w Unii Europejskiej, a w 2020 r. osiągnęła produkcję na poziomie ok. 10 mld sztuk, wskazane jest określenie potencjału naszych rodzimych komponentów białkowych, w tym uszlachetnionych form makuchu rzepakowego, w żywieniu kur nieśnych.

2. HIPOTEZA I CEL BADAŃ

2.1. Hipoteza badawcza:

W świetle dotychczasowych wyników badań postawiono hipotezę badawczą, która zakłada, że procesy uszlachetniania, takie jak obróbka hydrobarotermiczna czy fermentacja, mogą poprawiać wartość pokarmową makuchu rzepakowego, stanowiącego komponent mieszanek paszowych dla kur nieśnych, a w konsekwencji mają korzystny wpływ na wyniki produkcyjne, jakość jaj, status zdrowotny organizm i funkcjonowanie przewodu pokarmowego.

2.2. Cel badań:

Celem badań było określenie wpływu 20% udziału surowego makuchu rzepakowego (RRC) oraz poddanego obróbce hydrobarotermicznej (HRC) i procesowi fermentacji (FRC) w dietach dla kur nieśnych na wyniki produkcyjne, wybrane wskaźniki jakości jaj, profil kwasów tłuszczowych i status antyoksydacyjny żółtek jaj oraz parametry biochemiczne krwi i funkcjonowanie jelit u kur nieśnych.

3. MATERIAŁ I METODY

Podstawą dysertacji doktorskiej było doświadczenie przeprowadzone w Laboratorium Dydaktyczno-Badawczym w Bałdach, należącym do Katedry Drobiarstwa i Pszczelnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Wszystkie badania wykonano zgodnie z Dyrektywą UE 2010/63/EU, dotyczącą ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych (OJEU, 2010).

3.1. Makuch rzepakowy

Makuch rzepakowy pozyskany z rynku krajowego został zakupiony w firmie Agrolok w Golubiu-Dobrzyniu. Przed rozpoczęciem uszlachetniania hydrobarotermicznego, makuch rzepakowy rozdrobniono w młynie walcowym do uzyskania odpowiedniej struktury, a następnie kondycjonowano w temperaturze 90-95°C i wilgotności ok. 18%. W dalszej kolejności poddano go obróbce w hydroreaktorze termicznym, w którym podlegał działaniu pary wodnej i temperatury 95-100°C przez okres 15-20 min. Otrzymany surowiec ekspandowano w temperaturze 105-110°C stosując ciśnienie 40-60 atmosfer, po czym suszono i chłodzono, aby uzyskać odpowiednią wilgotność i temperaturę niezbędną do magazynowania.

Fermentację makuchu rzepakowego przeprowadzono wg metody opisanej w badaniach Drażbo i wsp. (2018a). Makuch rzepakowy został zmielony i wymieszany z wodą w stosunku 1:2. Podczas fermentacji użyto komercyjnego preparatu enzymu 6-fitazy *(Pichia pastoris)* dodając go do makuchu w stosunku wagowym 1:1000 i dokładnie mieszając. Fermentację w stanie stałym prowadzono przez 24 h w temperaturze 30°C w warunkach beztlenowych. Następnie enzym poddawano dezaktywacji w temperaturze 70°C przez 15 min. Przefermentowaną biomasę suszono w temperaturze 55°C. Proces fermentacji został przeprowadzony zgodnie z procedurą (numer patentu: 422849).

3.2. Ptaki i warunki utrzymania

Materiał doświadczalny stanowiły 304 kury nieśne Hy-Line Brown w wieku 36 tygodni, pochodzące z lokalnego stada komercyjnego. Przed rozpoczęciem eksperymentu wszystkie ptaki zostały indywidualnie zważone i umieszczone w klatkach bateryjnych trójkondygnacyjnych (wymiary: 40 × 35 × 60 cm), po dwie kury w klatce. Nioski podzielono w sposób losowy na cztery grupy doświadczalne (38 powtórzeń/klatek na grupę, dwie kury w klatce) i równomiernie rozłożono na trzech poziomach klatek. Temperatura w pomieszczeniu utrzymywana była na poziomie 20-22°C, a cykl oświetlenia wynosił 16 godzin światła ciągłego

i 8 godzin ciemności. Doświadczenie trwało 12 tygodni (do 48. tygodnia życia niosek), a przez cały okres trwania eksperymentu ptaki miały nieograniczony dostęp do paszy i wody. W trakcie badania ptaki żywiono izobiałkowymi i izokalorycznymi mieszankami pełnoporcjowymi w formie sypkiej, które różnicowano źródłem białka. W grupie kontrolnej (C) głównym źródłem białka w diecie była PSS, podczas gdy w grupach doświadczalnych kury otrzymywały diety z 20% udziałem RRC, HRC lub FRC. Wszystkie diety zostały zbilansowane zgodnie z zapotrzebowaniem ptaków na składniki pokarmowe (Smulikowska i Rutkowski, 2018). Skład i wartość pokarmową mieszanek doświadczalnych przedstawiono w Tabeli 1.

Zarówno RRC jak i wszystkie mieszanki paszowe przeanalizowano w dwóch powtórzeniach pod kątem zawartości suchej masy (SM), białka surowego (BS), tłuszczu surowego (TS) i popiołu surowego (PS) zgodnie z metodami AOAC (2007), odpowiednio: 934.01, 976.05, 920.39, 978.10, 942.05 i 984.27. Zawartość energii brutto została określona przy użyciu bomby kalorymetrycznej adiabatycznej (KL 12 Mn, Precyzja-Bit PPHU, Bydgoszcz, Polska) skalibrowanej kwasem benzoesowym. Zawartość wapnia (Ca) i fosforu (P) całkowitego w paszy oznaczono w dwóch powtórzeniach metodą optycznej spektrometrii emisyjnej w optycznym spektrometrze emisyjnym Avio TM 200 (Perkin Elmer). Fosfor fitynowy oznaczono według metody Haug i Lantzsch (1983). NSP w paszach i makuchu rzepakowym zostały oznaczone za pomocą chromatografii gazowo-cieczowej przy użyciu kolumny SP-2340 i gazowego chromatografu Varian CP3380 (Varian Inc., Palo Alto, CA, USA) oraz metody kolorymetrycznej (kwasy uronowe) przy użyciu spektrofotometru Biochrom Ultrospec 50 (Biochrom Ltd., Cambridge, UK), zgodnie z metodyką Englyst i Cummings (1984, 1988) z modyfikacjami Slominskiego i Campbella (1990). GLS oznaczono za pomocą chromatografii gazowo-cieczowej zgodnie z opisem Slominski i Campbell (1987).

3.3. Wyniki produkcyjne kur nieśnych

Masę kur określono na początku (36 tygodni życia) i na końcu (48 tygodni życia) doświadczenia. Codziennie kontrolowano produkcję jaj, a wskaźnik nieśności został wyrażony jako średnia produkcja jaj na jedną kurę w danym okresie. Jaja były zbierane codziennie, a produkcja jaj była wyrażana w oparciu o liczbę dni w odstępach 4-tygodniowych. Jednostkowa masa jaja była rejestrowana poprzez indywidualne ważenie jaj z każdej klatki co 2 tygodnie i została wykorzystana do obliczenia średniej masy jaja. Całkowita masa zniesionych jaj została obliczona przez pomnożenie średniej masy jaja przez liczbę jaj. Spożycie paszy kontrolowano co 4 tygodnie, w 40., 44. i 48. tygodniu życia ptaków.

Na podstawie całkowitego spożycia paszy oraz liczby dni w badanym okresie obliczono średnie dzienne spożycie paszy na jednego ptaka. Współczynnik wykorzystania paszy (FCR) (kg paszy/kg zniesionych jaj) obliczono na podstawie spożycia paszy i masy jaj.

3.4. Jakość jaj

W ostatnim tygodniu doświadczenia (48. tygodniu życia kur), z każdej grupy doświadczalnej wybrano losowo 12 jaj o średniej masie w celu określenia ich właściwości fizykochemicznych. Wszystkie analizy jakościowe zostały przeprowadzone w ciągu 24 godzin od zbioru. Jaja były ważone indywidualnie, a następnie wybijane na stoisku pomiarowym i badane pod kątem wysokości białka. Średnia z dwóch pomiarów i masa jaja została użyta do określenia wartości jednostek Haugha (JH) (Haugh, 1937). Barwę żółtka określano na podstawie 15-punktowej skali DSM. W kolejnym etapie badań żółtko zostało oddzielone od białka i ważone w celu określenia procentowego udziału poszczególnych części jaja. Grubość skorupy mierzono w trzech różnych miejscach (środek, koniec tępy i ostry) za pomocą śruby mikrometrycznej, a wynik został wyrażony jako średnia wartość z pomiarów. Wytrzymałość skorupy jaj została zmierzona za pomocą aparatu Egg Force Reader (ORKA Food Technology).

3.5. Skład kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu w żółtku jaja

Profil kwasów tłuszczowych oraz zawartość cholesterolu określono w jajach świeżych. Tłuszcz ekstrahowano z żółtek metodą Folch i wsp. (1957), a następnie wyekstrahowany tłuszcz poddano estryfikacji mieszaniną chloroformu, metanolu i kwasu siarkowego, zgodnie z opisem Peiskera (1964). Powstałe estry metylowe kwasów tłuszczowych (FAME) zostały rozdzielono przy użyciu chromatografu gazowego 7890A (Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, USA) z detektorem FID i kolumną kapilarną Supelcowax 10 o wymiarach 30m x 0,32 mm x 0,25 m. Identyfikację estrów metylowych kwasów tłuszczowych w badanych próbach wykonano stosując wzorzec odniesienia FAME (Supelco).

Cholesterol wyodrębniono z tłuszczu na drodze ekstrakcji eterem etylowym, a następnie estryfikacji z użyciem wodorotlenku potasu (KOH) zgodnie z metodą International Dairy Federation (1992). Uzyskane próby zostały przeanalizowane w chromatografie PU4600 (Unicam, Cambridge, UK) z detektorem jonizacji płomieniowej (FID).

3.6. Status oksydacyjny żółtek jaj

Homogenaty żółtek jaj zostały poddane analizie chemicznej w celu określenia koncentracji produktów peroksydacji lipidów. Zawartość nadtlenków lipidowych (LOOH) oznaczono zgodnie z metodyką Gay i Gebicki (2002), a zawartość dialdehydu malonowego (MDA) zgodnie z metodyką Botsoglou i wsp. (1994). MDA określono na podstawie reakcji kwasu tiobarbiturowego (TBA) z końcowymi produktami peroksydacji lipidów w kwaśnym środowisku i podwyższonej temperaturze, a produktem był barwny addukt MDA-TBA2. Aktywność enzymu przeciwutleniającego, dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), w żółtkach jaj oznaczono spektrofotometrycznie przy użyciu metody utleniania adrenaliny (Greenwald, 1985), przy zmodyfikowanej długości fali 320 nm w celu uzyskania większej selektywności pośrednich produktów reakcji. Aktywność katalazy (CAT) oznaczano zgodnie z metodą Claiborne'a (Greenwald, 1985). Test polegał na pomiarze szybkości rozkładu substratu (nadtlenku wodoru) katalizowanego przez ten enzym.

3.7. Analiza sensoryczna jaj kurzych

Ocenie sensorycznej poddano jaja gotowane na twardo, które wcześniej zanurzono w łaźni wodnej i utrzymywano w temperaturze 100°C przez 15 minut. Po zakończeniu obróbki termicznej jaja schładzano pod strumieniem zimnej bieżącej wody przez 15 minut. Bezpośrednio po schłodzeniu zostały one ocenione w pięciostopniowej skali hedonicznej, gdzie: 5—bardzo wysoka jakość, 4—wysoka jakość, 3—satysfakcjonująca jakość, 2—niesatysfakcjonująca jakość, 1—niska jakość. Oceniano następujące cechy sensoryczne jakości: wygląd (obejmujący wygląd całego jaja i jego przekrój podłużny), aromat, teksturę białka, teksturę żółtka, smak. Analizę przeprowadzono przy udziale sześciu wyszkolonych panelistów, wybranych ze względu na ich wrażliwość sensoryczną (ISO 2012). W pomieszczeniu panelowym utrzymywano wilgotność względną wynoszącą minimum 60% oraz temperaturę 21◦C.

3.8. Badanie strawnościowe

W szóstym tygodniu doświadczenia z każdej grupy wybrano losowo osiem klatek (wyposażonych w tace do zbierania odchodów), aby określić współczynniki strawności i retencję składników pokarmowych (SM, EE, azot-N, Ca i P), a także metaboliczność energii (AME_N) diet doświadczalnych. Jako niestrawny marker do każdej z diet dodano 3 g TiO_2/kg mieszanki paszowej. Podczas pięciodniowego okresu właściwego odchody z każdej klatki

zbierano dwa razy dziennie (w odstępach 12-godzinnych) i przechowywano w plastikowych torebkach w temperaturze -20°C. W ostatnim dniu odchody zebrane z każdej klatki zostały połączone, aby stanowiły jedną zbiorową próbę (8 powtórzeń na grupę), a następnie zamrożone i zliofilizowane do dalszych analiz. Poniższy wzór został użyty do obliczenia współczynników pozornej strawności składników pokarmowych i retencji składników pokarmowych:

$$Strawność = \left[1 - \left(\frac{TiO_2\ w\ diecie}{TiO_2\ w\ kałomoczu}\right) * \left(\frac{zaw.skł.pokarmowego\ w\ kałomoczu}{zaw.skł.pokarmowego\ w\ diecie}\right)\right] \quad * 100$$

Metaboliczność energii (AME_N) diet obliczono przy użyciu następującego wzoru:

$$AME_n\left(\frac{MJ}{kg}\right) = EB\ diety - \left[EB\ kałomoczu * \left(\frac{TiO_2 diety}{TiO_2 kałomoczu}\right)\right] - 0{,}0344 *$$
$$N\ diety - [N\ kałomoczu * \left(\frac{TiO_2 diety}{TiO_2 kałomoczu}\right)],$$

gdzie EB to energia brutto, N to azot, a TiO_2 to dwutlenek tytanu. Wartość AME_N została skorygowana do zerowego bilansu azotu przy użyciu współczynnika konwersji 0,0344 MJ/kg zatrzymanego N (Hill i Anderson, 1958). Obliczenia przeprowadzono oddzielnie dla każdego powtórzenia.

3.9. Analiza biochemiczna krwi

Pod koniec trwania doświadczenia, dziewięć ptaków z każdej grupy zostało losowo wybranych, zważonych i poddanych ubojowi w ubojni, znajdującej się w Laboratorium Dydaktyczno-Badawczym w Bałdach. Ptaki zostały ogłuszone za pomocą prądu elektrycznego (400 mA; 350 Hz), a następnie uśmiercone poprzez podcięcie naczyń krwionośnych szyi. Podczas wykrwawiania pobrano krew do analiz. Natychmiast po pobraniu próbki krwi zostały podzielone na probówki zawierające heparynę i EDTA jako antykoagulanty. Następnie próbki odwirowano (3000 obr./min), a powstałe osocze pobrano do dalszych analiz. Zawartość białka całkowitego (TP), albuminy (ALB), globuliny (GLB), cholesterolu całkowitego (TC), triacylogliceroli (TAG), bilirubiny (BIL), mocznika (UREA), kwasu moczowego (UA), kreatyniny (CREAT) oraz aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginianowej (AST), fosfatazy alkalicznej (ALP), dehydrogenazy mleczanowej (LDH) i transpeptydazy gamma-glutamylowej (GGT) mierzono w osoczu krwi przy użyciu automatycznego analizatora biochemicznego (Plasma Diagnostic Instruments, Horiba, Kyoto, Japonia). Zawartość wapnia (Ca), fosforu (P), magnezu (Mg), cynku (Zn), miedzi (Cu) i żelaza (Fe) w osoczu krwi kur oznaczono metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej na spektrometrze UNICAM 939. Stężenie T3 i T4 w surowicy oznaczono metodą

radioimmunologiczną przy użyciu zestawu diagnostycznego (Roche Diagnostics Gmbh, Mannheim, Niemcy) i analizatora Elecsys 1010 (Instrument Center AG, Rotkreuz, Szwajcaria).

3.10. Wskaźniki funkcjonowania przewodu pokarmowego u kur nieśnych

Wybrane odcinki przewodu pokarmowego (jelito biodrowe i jelita ślepe) zostały usunięte, opróżnione i zważone. Jelito biodrowe zdefiniowano jako odcinek od uchyłka Meckela do połączenia krętniczo-kątniczego. Mierzono masę i pH treści (pH-metr 301, Hanna Instruments, Vila do Conde, Portugalia) jelita biodrowego i jelit ślepych, zawartość w niej suchej masy według AOAC (2007) oraz dodatkowo w jelicie ślepym koncentrację amoniaku metodą Conwaya (Hofirek i Hass, 2001).

Aktywność zewnątrzkomórkową wybranych enzymów bakterii jelita ślepego (α- i β-glukozydazy, α- i β-galaktozydazy, β-glukuronidazy, α arabinopiranozydazy i β-ksylozydazy) uwalnianych z komórek bakteryjnych do treści jelitowej określano metodą Juśkiewicza i Zduńczyka (2002). Zawartość lotnych kwasów tłuszczowych SCFA w treści jelita ślepego analizowano metodą chromatografii gazowej. Do analiz wykorzystano chromatograf Shimadzu GC-2010 (Kyoto, Japonia) z kolumną kapilarną (SGEBP21, 30 m × 0,53 mm).

3.11. Analiza statystyczna

W celu określenie wpływu różnych form makuchu rzepakowego przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) przy użyciu oprogramowania Statistica 13.1 (StatSoft Corp., Kraków, Polska). W przypadku stwierdzenia istotności różnic między badanymi grupami zastosowano test post-hoc Tukeya. Dane przedstawiono jako wartości średnie z uwzględnieniem standardowego błędu, a wartość $P \leq 0,05$ uznano za istotną statystycznie.

4. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Wpływ obróbki hydrobarotermicznej i fermentacji na zawartość składników odżywczych i ANF w makuchu rzepakowym przedstawiono w Tabeli 2. W porównaniu z RRC, HRC charakteryzowała się niższym stężeniem TS (9,91 vs. 10,80%) i GLS (13,32 vs. 15,35 μmol/g), podczas gdy zawartość pozostałych składników nie uległa zmianie. Fermentacja miała większy wpływ na wartość odżywczą makuchu rzepakowego niż obróbka hydrobarotermiczna. FRC charakteryzował się wyższą zawartością SM (94,57 vs. 88,87%), BS (39,44 vs. 37,74%) i EB (21,86 vs. 21,19 MJ/kg) niż RRC oraz najniższym stężeniem TS (9,29%) spośród wszystkich analizowanych produktów rzepakowych. Obydwie zastosowane metody uszlachetniania wpłynęły na zawartość ANF w makuchu rzepakowym. Obróbka hydrobarotermiczna obniżyła przede wszystkim koncentrację dwóch GLS - hydroksyglukobrassycyny i neoglukobrassycyny w makuchu rzepakowym, (odpowiednio 0,86% vs. 2,10% i 0,12% vs. 0,27%), natomiast fermentacja wpłynęła na znaczne zmniejszenie wszystkich GLS, a dodatkowo fosforu fitynowego (FF) w badanym surowcu. Całkowita koncentracja GLS zmniejszyła się z 15,35% do 0,92%, a zawartość progoitryny była ponad 20 razy niższa w FRC niż w RRC (0,43% vs. 8,87%). Zawartość FF w makuchu obniżyła się natomiast dwukrotnie 0,833% vs. 1,607%).

Analiza wyników produkcyjnych kur nieśnych wykazała, że pod koniec doświadczenia kury z grupy HRC osiągnęły istotnie najwyższą masę ciała i była to wartość istotnie wyższa w porównaniu do grupy C ($p = 0,037$, Tabela 3). Nie stwierdzono wpływu żywienia na masę jaja, jednak wprowadzenie do diety niosek 20% udziału RRC istotnie obniżyło nieśność w porównaniu do grupy C, a w konsekwencji masę wszystkich zniesionych jaj w całym okresie doświadczenia (odpowiednio, $P=0.001$ and $P=0.014$). Pomimo, że dzienne spożycie paszy we wszystkich grupach kształtowało się na podobnym poziomie, wskaźnik FCR w grupie RRC był ostatecznie najwyższy i istotnie różnił się od tego, który uzyskano w grupie C ($P=0.026$). Zastosowanie HRC i FRC miało korzystniejszy wpływ na powyższe wskaźniki, przy czym najlepsze efekty odnotowano w grupie FRC, w której nieśność była porównywalna z grupą C i istotnie wyższa niż w grupie RRC. Masa wszystkich zniesionych jaj i wskaźnik FCR w grupach HRC i FRC osiągnęły numerycznie korzystniejsze wartości w porównaniu do grupy RRC, lecz mniej zadowalające niż w grupie C.

Analiza właściwości fizykochemicznych wykazała, że najlepszymi cechami jakości skorupy charakteryzowały się jaja z grupy C (Tabela 4). Niezależnie od rodzaju zastosowanego zabiegu technologicznego, wprowadzenie do diet niosek uszlachetnionego makuchu rzepakowego pogorszyło grubość i wytrzymałość skorupy jaj. Istotnie niższą w porównaniu

do grupy C grubością skorupy charakteryzowały się jaja od kur żywionych HRC, skorupa jaj pochodzących od kur żywionych FRC była również istotnie cieńsza w porównaniu z grupą RRC (P=0.001). W grupie HRC odnotowano również najniższą wytrzymałość skorupy (P=0.018). Fermentacja makuchu rzepakowego wpłynęła natomiast korzystniej w porównaniu do obróbki hydrobarotermicznej na wyznaczniki jakości białka jaj. Zarówno wysokość białka jak i wartości JH były najwyższe w jajach pochodzących z grupy FRC i różniły się istotnie od tych, które uzyskano w grupie HRC (P=0.001). Niezależnie od zastosowanej formy, dodatek makuchu rzepakowego w dietach dla kur nieśnych poprawił wybarwienie żółtka, przy czym najwyższe wartości w skali DSM odnotowano w grupie HRC (P=0,005). Zastosowane zabiegi żywieniowe nie miały wpływu na procentowy udział żółtka, białka i skorupy w jajach.

Rodzaj zastosowanego źródła białka w diecie kur miał istotny wpływ na profil kwasów tłuszczowych żółtka jaja (Tabela 5). Zarówno RRC, HRC jak i FRC wpłynął na zwiększenie (P=0,001) koncentracji kwasu linolowego (C18:2; n-6), kwasu linolenowego (C18:3; n-3) i kwasu dokozaheksoenowego (DHA) (C22:6, n-3). Dodatek HRC obniżył natomiast zawartość kwasu arachidonowego (C20:4, n-6) w żółtkach w porównaniu do jaj z pozostałych grup (P=0,002). Największą koncentrację SFA odnotowano w żółtkach jaj z grupy C (P=0,001). Jaja pochodzące od niosek otrzymujących w diecie RRC, HRC i FRC charakteryzowały się natomiast istotnie wyższym udziałem PUFA, PUFA n-6 i PUFA n-3 w całej sumie FA w porównaniu do grupy C (P=0,001) oraz dużo korzystniejszym stosunkiem kwasów n6/n3 (P=0,001). Jaja ze wszystkich grup otrzymujących mieszanki paszowe z 20% dodatkiem makuchu rzepakowego zawierały istotnie więcej kwasów o działaniu hipocholesterolemicznym oraz mniej hipercholesterolemicznych w porównaniu z grupą C (P=0,001). Najniższą koncentrację cholesterolu w żółtkach jaj odnotowano grupie HRC (P=0,001).

Wskaźniki statusu redoks żółtek jaj przedstawiono w Tabeli 6. Niezależnie od formy, RRC nie miał wpływu na stężenie MDA i glutationu całkowitego (GSH/GSSG) w żółtkach jaj. W jajach z grup RRC, HRC i FRC stwierdzono natomiast istotne obniżenie aktywności SOD (P=0,001) oraz zwiększenie aktywności CAT, przy czym w grupie FRC aktywność CAT była wyższa (P=0,002), w porównaniu do grupy C. Analiza stężenia LOOH wykazała istotny wzrost produktów utleniania lipidów w żółtkach jaj kur żywionych mieszankami z udziałem RRC (P=0,001). Zarówno proces hydrobarotermiczny, jak i fermentacja makuchu rzepakowego wpłynęły na obniżenie LOOH w żółtkach w porównaniu do RRC, w grupie FRC różnice potwierdzono statystycznie, a zawartość LOOH była porównywalna do grupy C.

Niezależnie od zastosowanej formy wprowadzenie makuchu rzepakowego do diety niosek nie pogorszyło podstawowych wyróżników oceny sensorycznej jaj takich jak wygląd ogólny,

tekstura białka, tekstura żółtka, a w szczególności smak i aromat (Tabela 7). Analiza statystyczna wyników uzyskanych z przeprowadzonej oceny wykazała, ze najwyższą ocenę panelu sensorycznego pod względem wszystkich analizowanych cech otrzymały jaja pochodzące od niosek z grupy FRC.

Wpływ zastosowanego źródła białka na wskaźniki biochemiczne krwi kur nieśnych przedstawiono w Tabeli 8. Włączenie makuchu rzepakowego i jego uszlachetnionych form do diety kur nieśnych nie miało wpływu na stężenie w osoczu krwi TC, ALT, LDH, UREA, UA, GGT, Mg, Zn oraz Cu. We krwi niosek z grup HRC oraz FRC odnotowano istotny wzrost stężenia TP w porównaniu do grupy C (P=0,001), przy czym stężenie ALB było najwyższe w grupie FRC (P=0,004), a GLB w grupie HRC (P=0,001). Istotny wzrost poziomu ALB odnotowano też we krwi niosek z grupy RRC, co przełożyło się na zwiększenie stężenia TP, jednak różnica ta nie została potwierdzona statystycznie. Zastosowanie diety HRC wpłynęło istotnie na obniżenie poziomu TAG (P=0,038), aktywności AST (P=0,001) oraz zawartości Fe (P=0,034) w porównaniu do grupy C. We krwi niosek z obydwu grup żywionych uszlachetnionym makuchem rzepakowym odnotowano istotnie niższą zawartość CREAT (P=0,001), a w grupie FRC również niższą aktywność ALP (P=0,001) w odniesieniu do grup C oraz RRC. Najwyższy poziom BIL odnotowano w osoczu krwi kur z grupy RRC (P=0,001). Zastosowanie FRC w diecie kur nieśnych wpłynęło na istotne zwiększenie stężenia Ca we krwi w porównaniu do grupy RRC (P=0,001) oraz P w porównaniu do wszystkich pozostałych grup doświadczalnych (P=0,005). Analiza koncentracji hormonów tarczycy nie wykazała wpływu zastosowania RRC na zmiany ich poziomu, natomiast FRC spowodował zwiększenie zarówno T3, jak i T4 w osoczu krwi niosek, przy czym jedynie poziom T3 był istotnie wyższy w odniesieniu do pozostałych grup doświadczalnych (P=0,001).

Niezależnie od formy, zastosowany w diecie makuch rzepakowy wpłynął na istotne pogorszenie strawności DM (P=0,002) oraz obniżenie retencji Ca z diety (P=0,001) (Tabela 9). W grupach RRC, HRC i FRC odnotowano natomiast istotna poprawę współczynników strawności tłuszczu surowego w porównaniu do grupy C (P=0,001). Wprowadzenie do diety niosek makuchu rzepakowego poddanego obróbce hydrobarotermicznej miało niekorzystny wpływ na retencję P, która była najniższa ze wszystkich grup doświadczalnych (P=0,027). Nie stwierdzono wpływu diety na retencję N i metaboliczność energii AMEn.

Wskaźniki funkcjonowania jelit u kur nieśnych przedstawiono w Tabeli 10. Wprowadzenie HRC do diety niosek spowodowało znaczny spadek względnej masy tkanki jelita ślepego w porównaniu z kurami z grupy C (P = 0,026). U ptaków żywionych mieszankami z udziałem wszystkich trzech produktów rzepakowych, odnotowano też zmniejszenie masy treści

pokarmowej jelita ślepego w porównaniu do grupy kontrolnej (P=0,001), natomiast najniższe pH treści odnotowano w grupie RRC (P<0,05). Włączenie do diety kur nieśnych HRC i FRC spowodowało istotny wzrost zawartości SM w jelicie ślepym ptaków (P<0,05), a w grupie HRC dodatkowo wzrost koncentracji amoniaku w treści w porównaniu do ptaków z grupy kontrolnej i grupy RRC (P<0,05).

Analiza aktywności wybranych enzymów bakteryjnych w treści pokarmowej jelita ślepego (Tabela 11) wykazała, że jedynie aktywność ß-glukozydazy nie była zależna od rodzaju wprowadzonego do diety makuchu rzepakowego. Włączenie do diety FRC istotnie zwiększyło aktywność bakteryjnej α-glukozydazy i α-arabinopiranozydazy w porównaniu z pozostałymi grupami (P<0,05). Niezależnie od rodzaju, wszystkie komponenty rzepakowe dodane do diet dla niosek spowodowały istotny wzrost aktywności bakteryjnej α-galaktozydazy w porównaniu z grupą C (P<0,05), a jej aktywność była najwyższa w jelicie ślepym ptaków z grupy HRC (P<0,05 vs. C i FRC). Zwiększenie aktywności bakteryjnej β-galaktozydazy (P<0,05) a zmniejszenie aktywności β-ksylozydazy (P<0,05) w treści jelita ślepego odnotowano natomiast w grupach RRC i HRC, w porównaniu z grupą C. Najniższą aktywność bakteryjnej β-glukuronidazy w jelicie ślepym odnotowano w grupie FRC (P<0,05 vs. RRC). Analiza koncentracji lotnych kwasów tłuszczowych (SCFA) wykazała, że w treści jelita ślepego ptaków z grupy RRC odnotowano istotnie najwyższą, w porównaniu do grup HRC i FRC, zawartość zarówno kwasu octowego, jak i wszystkich SCFA (P <0,05 vs. HRC i FRC) natomiast najniższą zawartość tych kwasów stwierdzono w treści jelit ślepych ptaków z grupy HRC (P vs. C i RRC). W grupie RRC odnotowano też najwyższe stężenie kwasu propionowego w treści pokarmowej jelita ślepego (P <0,05 vs. HRC). Warto podkreślić, że w jelitach ślepych ptaków żywionych dietą zawierającą HRC stwierdzono najniższą zawartość kwasu masłowego w porównaniu z ptakami z grup C i RRC (P<0,05). Nie stwierdzono zmian w profilu SCFA, w którym dominował kwas octowy, jak również kwas propionowy i masłowy.

5. DYSKUSJA

Poprawa nieśności jest głównym czynnikiem determinującym intensyfikację i wydajność produkcji kur nieśnych. Praktyka światowa wskazuje na coraz częstsze wykorzystywanie produktów ubocznych w żywieniu drobiu, między innymi tych, które powstały podczas produkcji oleju. Stosowanie makuchu rzepakowego wiąże się jednak z pewnymi ograniczeniami, które spowodowane są obecnością dużej ilości ANF. Wpływ fermentacji czy obróbki z zastosowaniem wysokiego ciśnienia i temperatury na skład chemiczny i wartość pokarmową komponentów paszowych dla drobiu był szeroko opisywany w dotychczasowych badaniach (Fenwick i wsp., 1986; Naji i wsp., 2016; Goodarzi Boroojeni i wsp., 2018; Lv i wsp., 2020; Zentek i Goodarzi Boroojeni, 2020). W niniejszych badaniach zarówno obróbka hydrobarotermiczna, jak i fermentacja miały niewielki wpływ na skład chemiczny makuchu rzepakowego. Niewielki wzrost zawartości BS w FRC można prawdopodobnie przypisać zmianom w zawartości SM, a nie rzeczywistemu wzrostowi zawartości białka (Chiang i wsp., 2010). Obserwację tę można również tłumaczyć niewielkim wzrostem poziomu NSP w FRC. Istotne zmiany odnotowano natomiast analizując zawartość ANF w komponentach doświadczalnych. Zawartość GLS w HRF obniżyła się o 2 punkty procentowe, natomiast w FRC była prawie 17 razy niższa niż w RRC. GLS mogą powodować występowanie różnych nieprawidłowości w funkcjonowaniu organizmu ptaków, takich jak zaburzenia pracy wątroby i nerek, pogorszenie stanu zdrowia czy niedoczynność tarczycy (Fu i wsp., 2021). Szczególnie znaczące jest obniżenie koncentracji progoitryny, której produkt degradacji – goitryna może zaburzać gospodarkę jodu w organizmie, czego konsekwencją jest nieprawidłowe funkcjonowanie peroksydazy tarczycowej, a w konsekwencji pojawienie się przerostów tarczycy (Keum i wsp., 2004). Vig i Walia (2001) oraz Chiang i wsp. (2010) wykazali, że redukcja GLS w PSR jest proporcjonalna do czasu fermentacji, a po 30 dniach stężenie izotiocyjanianów może obniżyć się nawet o 83%. Zmniejszenie zawartości GLS oraz ich produktów przemiany materii podczas procesu fermentacji może być spowodowane rozkładem glukozy i cząsteczek siarkowych za pośrednictwem enzymów mikrobiologicznych (Tripathi i Mishra, 2007). Z kolei zastosowanie obróbki termicznej z wykorzystaniem wysokiego ciśnienia powoduje inaktywację enzymu mirozynazy, który przyczynia się do tworzenia mechanizmu hydrolizy GLS, przez co dochodzi do tworzenia się ANF (Huang i wsp., 1995). Warto podkreślić, że FRC zawierał dwukrotnie mniej FF niż RRC oraz HRC. Według Fazhi i wsp. (2011), podczas fermentacji fitazy mikrobiologiczne mogą redukować zawartość kwasu fitynowego w rzepaku. W literaturze dostępne są badania, w których oceniano

zdolność różnych mikroorganizmów pod kątem ich zdolności do produkcji fitazy i ich wykorzystania do redukcji zawartości kwasu fitynowego w PSR podczas fermentacji (Al-Asheh i Duvnjak, 1995; Ebune i wsp., 1995).

Diety ze zwiększonym udziałem produktów rzepakowych mogą wpływać na pogorszenie spożycia paszy przez ptaki, ze względu na gorzki smak metabolitów rozpadu GLS (Fenwick i wsp., 1984). Dodatkowo dość duża zawartość włókna w makuchu rzepakowym zwiększa uczucie sytości, co również może powodować obniżenie spożycia paszy (Razdan i wsp., 1997). Wiele dostępnych badań wskazuje, że już powyżej 100 g PSR/kg mieszanki może wpływać na pogorszenie spożycia paszy oraz zmniejszenie masy jaj (Leslie i Summers, 1972; Najib i Al-Khateeb, 2004; Zhu i wsp., 2018b). Co ciekawe, powyższa zależność nie została zaobserwowana w obecnym badaniu, w którym średnie dzienne spożycie paszy i masa jaja były zbliżone we wszystkich grupach. Mimo to, włączenie RRC do diety kur znacznie zmniejszyło nieśność i masę jaj, a także pogorszyło FCR obliczone za całe doświadczenie. Zastosowanie obydwu procesów uszlachetniających makuch rzepakowy miało korzystny wpływ na nieśność kur, dzięki czemu wskaźniki, które uległy pogorszeniu w grupie RRC, w grupach HRC oraz FRC były porównywalne do grupy kontrolnej. Jest to zgodne z wynikami badań Jerocha i wsp. (1995, 2008), którzy stwierdzili, że możliwe jest zastosowanie nawet do 30% udziału tego komponentu w diecie kur nieśnych bez pogorszenia ich wyników produkcyjnych.

Jakość skorupy jaj konsumpcyjnych ma bardzo duże znaczenie dla przemysłu jajczarskiego (Roberts, 2004). Niniejsze badania wykazały, że niezależnie od formy, zastosowanie w żywieniu kur nieśnych 20% udziału makuchu rzepakowego miało niekorzystny wpływ na grubość skorupy a w konsekwencji jej wytrzymałość. W badaniach Riyazi i wsp. (2009); Świątkiewicz i wsp. (2010) czy Zhu i wsp. (2019) wprowadzenie produktów rzepakowych do diety niosek nie miało wpływu na jakość skorupy, podczas gdy Sasyte i wsp. (2017) stwierdzili, że zastosowanie nawet niewielkich ilości ekstrudowanych nasion rzepaku wpływa na obniżenie grubości skorupy jaj. Co ciekawe, w niniejszych badaniach korzystniejszy efekt miało zastosowanie RRC niż HRC czy FRC, gdyż pomimo numerycznie niższych wartości, wyniki uzyskane w tej grupie były statystycznie porównywalne z grupą C. Jest to dość zaskakujące, spodziewano się bowiem, że zastosowanie FRC, w którym zawartość FF była znacznie niższa niż w pozostałych komponentach doświadczalnych, pozwoli uzyskać lepsze wskaźniki jakości skorupy. Według Skřivan i in. (2018) wysoki poziom FF w diecie wpływa bowiem negatywnie na wykorzystanie P przez nioski, co może m.in. obniżać jakość skorupy. Fermentacja makuchu rzepakowego miała natomiast korzystny wpływ na parametry jakości białka jaj. Najlepszą jakością białka, wyrażaną jego wysokością oraz wartością JH

charakteryzowały się jaja z grupy FRC, a istotne różnice odnotowano w odniesieniu do grupy HRC. Jest to związane najprawdopodobniej z dużo niższą w porównaniu do RRC i HRC zawartością GLS w FRC. Według Zhu i wsp. (2019) metabolity GLS mogą hamować syntezę albumin jaja kurzego, co wpływa na zmniejszenie wysokości białka i obniża wartość JH. Dotychczasowe wyniki badań dotyczące wpływu produktów rzepakowych na jakość białka jaj nie są jednak jednoznaczne. W badaniach Lichovníková i wsp. (2008) i Riyazi i wsp. (2009) zastosowanie PSR w diecie kur nieśnych nie miało wpływu na wartość JH, natomiast w doświadczeniu Najib i Al-Khateeb (2004) wartość ta wzrastała wraz ze wzrostem PSR w diecie. Niestety w dostępnej literaturze brak jest informacji dotyczących wpływu uszlachetnionych pasz rzepakowych na wyżej wymienione wskaźniki. Wyniki niniejszych badań wskazują, że włączenie komponentów rzepakowych do diet dla kur nieśnych poprawiło wybarwienie żółtek jaj, co jest zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych autorów (Najib i Al-Khateeb, 2004; Zhu i wsp., 2018, 2019). Należy podkreślić, że zastosowanie makuchu przetworzonego, szczególnie HRC, dało lepszy efekt niż nieprzetworzonego, niezbędne są jednak dodatkowe badania, które pozwolą wyjaśnić tą zależność.

Profil kwasów tłuszczowych jaj jest ważnym atrybutem jakości dla konsumentów, co sprawia, że stale podejmowane są wysiłki poprawy żywienia kur nieśnych w celu zmodyfikowania składu jaj na jeszcze bardziej wartościowy (Favé i wsp., 2004). Do kwasów PUFA zawartych w żółtku jaja, które z biologicznego punktu widzenia uważane są za najważniejsze, należą: C18:2 n-6 (kwas linolowy, który jest substratem w biosyntezie innych długołańcuchowych kwasów tłuszczowych), C18:3n-3 (kwas linolenowy), C20:5n-3 (EPA) i C22:6n-3 (DHA) (Tomaszewska i wsp., 2021). Większość z nich to kwasy z rodziny n-3, które korzystnie działają na pracę serca, rozwój mózgu, zdrowie psychiczne oraz zapobieganie nowotworom, chorobom autoimmunologicznym i cukrzycy (MacLean i wsp., 2006; Koppenol i wsp., 2014), niestety nie mogą być one syntetyzowane przez organizm, dlatego muszą być dostarczane w diecie. Wszystkie diety zawierające RRC, HRC lub FRC poprawiły profil kwasów tłuszczowych żółtek jaj w stosunku do grupy C poprzez zwiększenie zawartości kwasu linolowego, linolenowego i DHA oraz zmniejszenie stosunku PUFA n-6/n-3.

Według Buckiuniene i wsp. (2018) zwiększenie poziomu PUFA n-3 wpływa między innymi na obniżenie stosunku n6/n3, a tym samym korzystnie oddziałuje na profil kwasów tłuszczowych żółtka. Zgodnie z zaleceniami Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), dotyczących żywieniowych norm dziennego spożycia poszczególnych rodzajów tłuszczów, stosunek PUFA n-6/ PUFA n-3 w diecie powinien wynosić 4:1 (Osek i Gallien, 2002). Według Kaczmarek i wsp. (2016) makuch rzepakowy bogaty jest we wspomniane już kwasy n-3;

linolowy czy linolenowy, a stosunek kwasów n6/n3 wynosi około 2 i jest korzystniejszy dla zwierząt monogastrycznych, niż w innych paszach, co niewątpliwie wpłynęło na uzyskane w naszych badaniach wyniki. Korzystny wpływ zastosowania oleju rzepakowego na profil kwasów tłuszczowych jaj kurzych został potwierdzony przez wielu autorów (Halle i Schöne, 2013; Faitarone i wsp., 2016; Wang i wsp., 2017). W dostępnej literaturze brak jest jednak badań, dotyczących wpływu fermentowanych czy poddanych obróbce hydrobarotermicznej produktów rzepakowych na profil kwasów tłuszczowych jaj kurzych. Warto jednak wspomnieć, że pomimo braku statystycznych różnic, numerycznie najwyższy udział kwasów PUFA n-3 oraz najkorzystniejszy stosunek n6/n3 odnotowano w żółtkach jaj z grupy FRC.

Dość zaskakujące wyniki uzyskano analizując wpływ różnych form makuchu na zawartość cholesterolu w jajach. Panaite i wsp. (2020) wykazali, że diety bogate w PUFA mogą skutecznie obniżać poziom cholesterolu w jajach. Niniejsze badania wykazały, że w żółtkach jaj z grup RRC, HRC oraz FRC znajdowało się najmniej hipercholesterolemicznych kwasów tłuszczowych, przy jednocześnie najwyższym poziomie kwasów hipocholesterolemicznych, dlatego spodziewano się obniżenia cholesterolu w żółtkach jaj wszystkich grup doświadczalnych. Istotne zmniejszenie tego składnika zaobserwowano jednak jedynie w jajach z grupy HRC, co jest dość trudne do wyjaśnienia. Można jedynie spekulować, że niższa zawartość cholesterolu w grupie HRC ma związek z metabolizmem karotenoidów, które były dobrze wchłaniane i przenoszone do żółtka jaja, co znacznie poprawiło jego barwę. Według Yeum i Russell (2002) diety bogate w karotenoidy wiążą się z niższym stężeniem cholesterolu w surowicy krwi, a tym samym prawdopodobnie w żółtkach jaj.

Jak już wspomniano, włączenie makuchu do diet dla kur nieśnych spowodowało zwiększenie zawartości PUFA n3 w żółtkach jaj. Wiadomo jednak, że wzbogacenie diet dla kur nieśnych w kwasy PUFA może zwiększać podatność żółtek jaj na peroksydację lipidów (An i wsp., 2010). Proces ten prowadzi do produkcji MDA, końcowego produktu peroksydacji lipidów, a zawartość MDA w tkankach pośrednio odzwierciedla stopień peroksydacji lipidów przez reaktywne formy tlenu (Yang i wsp., 2008). W niniejszych badaniach zawartość MDA w żółtkach jaj była porównywalna we wszystkich grupach doświadczalnych, odnotowano natomiast istotny spadek aktywności SOD we wszystkich grupach otrzymujących makuch w diecie, przy jednoczesnym wzroście aktywności CAT, w szczególności w grupie FRC. SOD i CAT są głównymi enzymami antyoksydacyjnymi w organizmie, zaangażowanymi w zmiatanie wolnych rodników tlenowych poprzez mechanizm reakcji łańcuchowej (Rajput i in., 2013). Z uwagi na fakt, że nie odnotowano zmian w poziomie MDA w jajach należy uznać, że zastosowane zabiegi żywieniowe nie indukowały procesów oksydacyjnych. Co więcej,

odnotowane zmiany aktywności enzymów antyoksydacyjnych mogą wskazywać, że dodatek makuchu rzepakowego, szczególnie poddanego procesowi fermentacji, zwiększa potencjał enzymatycznej obrony antyoksydacyjnej, bowiem wskazuje na to najniższy poziom MDA oraz podwyższona aktywność CAT. Według Ognik i Krauze (2016) aktywność SOD i CAT może zarówno zwiększać się, jak i zmniejszać, pod wpływem stosowania dodatków paszowych lub komponentów o właściwościach antyoksydacyjnych, jednak kierunek zmian aktywności tych enzymów może zależeć od wyjściowego potencjału redox.

Wielu autorów wskazuje na ryzyko pogorszenia jakości sensorycznej, a w szczególności wystąpienia rybiego zapachu jaj pochodzących od kur żywionych mieszankami z udziałem pasz rzepakowych (Elangovan i wsp., 2001; Goldberg i wsp., 2016; Grigorova i wsp., 2017). W obecnych badaniach włączenie 20% RRC i HRC do diet kur nieśnych nie miało wpływu na smak, zapach czy teksturę jaj, co ciekawe zastosowanie FRC istotnie poprawiło analizowane cechy w porównaniu do grupy kontrolnej. W badaniach Lichovníkovej i wsp. (2008) oraz Świątkiewicza i Koreleskiego (2009) już 8% dodatek nieprzetworzonych pasz rzepakowych pogorszył wspomniane cechy, co tłumaczono obecnością TMA w żółtkach jaj o brązowej barwie skorupy. Uzyskane w niniejszym badaniu wyniki nie potwierdzają tej teorii, co więcej proces fermentacji makuchu rzepakowego pozwolił uzyskać jaja o najlepszej jakości sensorycznej. Być może ma to związek z niższą zawartością GLS, a w konsekwencji goitryny, która uniemożliwia oksydację TMA do bezwonnych związków.

Analiza wskaźników biochemicznych krwi nieśnych pozwoliła określić wpływ diet z udziałem różnych form makuchu rzepakowego na status zdrowotny organizmu ptaków. Nasze badania wykazały, że w obydwu grupach niosek żywionych uszlachetnionym makuchem rzepakowym odnotowano najwyższy poziom TP, dodatkowo w grupie HRC również GLB, a w grupie FRC - ALB. Stahly i wsp. (1994) stwierdzili, że poziom TP i ALB jest związany z anabolizmem białek w organizmie, i wykazuje dodatnią korelację, odzwierciedlając poprawę odkładania białka w tkankach. Wyniki niniejszego badania wskazują, że diety z 20% zawartością makuchu rzepakowego, zwłaszcza HRC i FRC, mają korzystny wpływ na metabolizm białek, nie obciążając wątroby, o czym świadczy zmniejszona aktywność AST, a w przypadku stosowania FRC, również ALP we krwi. Jak donoszą Straková i wsp. (2021), wysoki poziom AST może wskazywać na uszkodzenie wątroby, z kolei Thompsona i Todd (1994) podają, że aktywność AST w surowicy krwi zaczyna rosnąć w okresie przedhemolitycznym. W grupie FRC odnotowano korzystnie najniższą aktywność ALP. Fermentacja makuchu najprawdopodobniej zwiększyła w nim zawartość bakterii kwasu mlekowego, a dotychczasowe badania wykazują, że probiotyki mają zdolność zmniejszania

aktywności enzymów wątrobowych (Tang i wsp., 2017). Zaskakujące natomiast było zwiększenie, w porównaniu do grupy RRC i HRC koncentracji TG w grupie FRC, która była porównywalna do grupy C. W badaniach Drażbo i wsp. (2018) oraz badaniach Hu i wsp. (2016) przeprowadzonych na drobiu rzeźnym, FRC zmniejszył wartość tego wskaźnika metabolizmu lipidów u ptaków w stosunku do RRC. W niniejszym eksperymencie, korzystniejsze okazało się zastosowanie obróbki hydrobarotermicznej, ponieważ w grupie HRC poziom TG był najniższy, co świadczy o poprawie wykorzystania tłuszczu i lipidów w diecie. U niosek z grupy FRC wykazano najwyższą koncentrację Ca i P we krwi. Może być to związane ze wzrostem zawartości dostępnego P i Ca w sfermentowanym makuchu rzepakowym (Fazhi i wsp., 2011). Czech i in. (2020) twierdzą, że obecność mikrobiologicznej fitazy, która powstała podczas procesu fermentacji, wpływa na poprawę dostępności tych pierwiastków, dzięki czemu działa korzystnie na procesy kostnienia. Wiadomo, że kwas fitynowy zawarty w nasionach rzepaku zmniejsza dostępność nie tylko P, ale również Ca (Sugiharto i Ranjitkar, 2019), dlatego potwierdzone w naszych badaniach obniżenie koncentracji FF w makuchu rzepakowym mogło spowodować zwiększenie poziomu obydwu tych pierwiastków we krwi kur niosek.

Jak już wspomniano, duże ilości GLS i produktów ich degradacji w paszy dla drobiu mogą zaburzać czynność tarczycy. Według Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (2008) izotiocyjaniany, jony tiocyjanianowe i oksazolidynodiony, w tym goitryna (5-winylooksazolidyn-2-tion), hamują wychwyt jodu i biosyntezę hormonów tarczycy T3 i T4, prowadząc do niedoczynności tarczycy i jej powiększenia. Zmiany w funkcjonowaniu tarczycy odpowiadają więc za wiele objawów klinicznych u ptaków, takich jak zahamowanie wzrostu czy zaburzenia płodności. W naszym doświadczeniu wykazano, że niezależnie od zastosowanej formy makuchu rzepakowego, udział tego składnika w diecie nie miał istotnego wpływu na poziom T4 w osoczu krwi niosek, natomiast najwyższą wartość T4 i T3 odnotowano u kur z grupy FRC. Xu i wsp. (2011) twierdzą, że wyższe stężenie T3 świadczy o niższej zawartości izotiocyjanianów w paszy, co zgadza się z przedstawionymi w niniejszej pracy wynikami składu chemicznego zastosowanych komponentów rzepakowych.

Niezależnie od formy, wprowadzenie makuchu rzepakowego do diet dla kur nieśnych wpłynęło na pogorszenie strawności SM oraz retencji Ca. Co ciekawe, we wszystkich grupach doświadczalnych odnotowano istotną poprawę strawności tłuszczu. Według Zhu i in. (2019) pogorszenie strawności może być związane z dość dużą zawartością włókna w komponentach doświadczalnych, która ze względu na swoje właściwości fizykochemiczne ogranicza czas dostępny na rozkład składników pokarmowych. Dodatkowo izotiocyjaniany działają drażniąco na przewód pokarmowy i mogą zmniejszać wysokość kosmków jelitowych, co może mieć

negatywny wpływ na strawność składników odżywczych. Pomimo, że fermentacja makuchu drastycznie obniżyła koncentrację GLS w makuchu rzepakowym w niniejszym doświadczeniu, żaden z procesów technologicznych nie zmienił zawartości NSP. Można więc sądzić, że ani obróbka hydrobarotermiczna, ani fermentacja nie poprawiła przyswajalności składników pokarmowych z makuchu rzepakowego. Najbardziej interesujący jest jednak fakt, że najniższą retencję P odnotowano u kur, w żywieniu których zastosowano HRC. Trudno jest to wyjaśnić, dlatego tematyka ta wymaga dalszych badań.

Niezależnie od formy, wprowadzenie makuchu rzepakowego do diet dla niosek spowodowało zmniejszenie masy treści pokarmowej jelita ślepego. Na wielkość tej cechy ma istotny wpływ szereg czynników, związanych zarówno z funkcjonowaniem jelita cienkiego, jak i jelita grubego, m.in. uwodnienie, skład, lepkość treści. Jakkolwiek lepkość treści jelita cienkiego nie uległa statystycznym zmianom pod wpływem dodatku preparatów rzepakowych, to była ona mniejsza i mogła sprzyjać przechodzeniu treści pokarmowej przez górny odcinek przewodu pokarmowego.

Wyraźnie widać, że to nie zabiegi hydrobaryczne, termiczne i fermentacyjne wpłynęły na stopień akumulacji treści w jelitach ślepych, a rodzaj i pochodzenie frakcji błonnika, w tym NSP. Wszystkie preparaty rzepakowe ograniczyły stopień akumulacji treści w jelitach ślepych. Należy jednak przyjąć, że zastosowane zabiegi technologiczne w preparatach HRC i FRC jakkolwiek nie zmieniły ilości frakcji włókna, to zapewne wpłynęły na strukturę NSP, co mogło mieć znakomity wpływ na aktywność metaboliczną mikrobioty i związaną z tym intensywność procesów fermentacyjnych. Mniejsza akumulacja treści jelit ślepych mogła mieć także związek z obecnością w rzepaku polifenoli, które mają działanie modulujące na czas przejścia treści pokarmowej do dolnego odcinka układu pokarmowego (Di Carlo i wsp., 1993). W prezentowanym doświadczeniu na strawność i retencję składników pokarmowych większy wpływ miał dodatek preparatów z rzepaku, a mniejszy zastosowane zabiegi technologiczne. Jedynie w przypadku retencji P odnotowano istotne jego zmniejszenie w grupie HRC. Należy zwrócić uwagę, że wartość pH treści jelita cienkiego nie uległa zmianie w grupach rzepakowych w porównaniu do grupy C. W przypadku niekorzystnego nadmiernego rozwoju populacji bakterii, już w górnym odcinku przewodu pokarmowego może dojść do obniżenia pH treści i zaburzenia procesów trawienia oraz absorpcji w tych odcinkach. Powszechnie jednak wiadomo, że bardziej zakwaszone środowisko jelita grubego sprzyja namnażaniu się pożądanych gatunków bakterii i pozytywnie wpływa na stan zdrowia końcowego odcinka przewodu pokarmowego (Zduńczyk i in., 2013).

W niniejszych badaniach istotnie najniższą wartość pH odnotowano w jelicie ślepym niosek z grupy RRC, a zwiększenie pH w grupach HRC i FRC miało najprawdopodobniej związek ze stężeniami amoniaku i SCFA w treści jelit ślepych. Jednak kwasowość treści pokarmowej jelita ślepego zależy od wielu czynników, w tym nie tylko od stężenia amoniaku i SCFA, ale także od podstawowej zdolności buforowania treści pokarmowej jelit. Należy podkreślić, że zwiększone stężenie amoniaku w treści pokarmowej jelita ślepego kur żywionych HRC nie było szkodliwe dla błony śluzowej jelit. Niemniej jednak, poziom amoniaku powinien być uważnie monitorowany w przyszłych doświadczeniach, obejmujących stosowanie HRC jako składnika diety. Równowaga między produkcją amoniaku, a jego wchłanianiem przez mikrobiotę i komórki nabłonka jelitowego ma kluczowe znaczenie dla utrzymania zdrowego metabolizmu i morfologii nabłonka jelitowego. W obecnym badaniu stosowanie diet z udziałem różnych form makuchu rzepakowego miało znaczący wpływ na zewnątrzkomórkową aktywność enzymów bakteryjnych i stężenie SCFA. Generalnie w jelitach ślepych niosek we wszystkich grupach otrzymujących makuch rzepakowy w diecie odnotowano wzrost aktywności enzymów bakteryjnych (poza β-ksylozydazą), jednak intensywność procesów fermentacyjnych zwiększyła się jedynie w grupie RRC. Stężenie kwasu octowego, propionowego, masłowego i SCFA ogółem były istotnie wyższe w grupie RRC niż w grupach HRC i FRC. Różnice w aktywności analizowanych enzymów w grupach z udziałem makuchu rzepakowego mogą wskazywać na istotny wpływ zastosowanych procesów technologicznych na jego strukturę, a tym samym dostępność i podatność na działanie aparatu enzymatycznego mikrobioty. Przykładowo, zwiększona aktywność bakteryjnej α-glukozydazy i α-arabinopiranozydazy u kur żywionych FRC wskazuje na zwiększoną zdolność trawienia skrobi opornej oraz rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych frakcji włókna (celuloza, NSP, np. arabiniany). Strychalski i wsp. (2014) zaobserwowali istotny wzrost zewnątrzkomórkowej aktywności bakteryjnej α-arabinopiranozydazy w jelicie ślepym królików żywionych dietą wzbogaconą w 5% udział RRC, w porównaniu do tych karmionych dietą opartą na PSS. Według cytowanych autorów wynika to z faktu, że polisacharydy o wysokiej masie cząsteczkowej (tj. arabinany, arabinogalaktany i polisacharydy pektynowe) są obecne w mniejszych ilościach w PSS niż w RRC. Włączenie FRC do diet kur nieśnych istotnie zwiększyło aktywność bakteryjnej α-glukozydazy i α-arabinopiranozydazy, ale nie miało wpływu na szybkość procesów fermentacyjnych, a stężenie całkowitych i głównych SCFA w jelicie ślepym było niższe w tej grupie, aniżeli w grupach C i RRC. Należy zauważyć, że badane stężenia SCFA w jelitach ślepych są wypadkową procesów produkcji tych kwasów przez mikrobiotę i intensywności procesów ich absorpcji ze światła jelita do komórek nabłonka,

a następnie do tkanek i organów wewnętrznych. Nie można także wykluczyć, że sfermentowane frakcje błonnika były w pewnej części wykorzystane już w jelitach cienkich, a ilość substratów podatnych na fermentacje mikrobiologiczną docierających do jelit ślepych była mniejsza. Zmniejszone stężenie SCFA w treści grup HRC i FRC miały zapewne niebagatelne znaczenie dla stopnia zakwaszenia treści pokarmowej. W grupie FRC odnotowano natomiast najniższą aktywność β-glukuronidazy. Aktywność tego enzymu jest wskaźnikiem niekorzystnych zmian w mikroflorze jelitowej, ponieważ wzrasta on wraz z rozwojem bakterii E. coli i Clostridium (Beaud i wsp., 2005). Aktywność β-glukuronidazy była najniższa w grupie FRC. Zmniejszona aktywność β-glukuronidazy może wskazywać na zmniejszoną populację *E. coli* i *Clostridium* oraz mniejsze ryzyko hydrolizy glukuronidów w świetle jelita, co generuje substancje toksyczne i rakotwórcze z nietoksycznych glikozydów. Korzystne wyniki w tej grupie są zapewne efektem zawartości w FRC bakterii kwasu mlekowego, które powodują zmniejszenie aktywności β-glukuronidazy (De Moreno de Blanc i Perdigo, 2005).

Lotne kwasy tłuszczowe są ważnym źródłem energii dla nabłonka jelitowego, a ich stężenie jest ważnym wskaźnikiem stanu fizjologicznego jelit. Szczególnie ważną rolę odgrywa kwas masłowy - jako źródło energii dla wzrostu enterocytów i proliferacji komórek nabłonka jelitowego, regulacji produkcji mucyn, utrzymania funkcji immunologicznej jelit oraz ochrony środowiska jelit przed kolonizacją przez patogeny (Antonissen i wsp., 2016). W niniejszym badaniu RRC i FRC wywierały korzystniejszy wpływ niż HRC, ponieważ nie miały negatywnego wpływu na stężenie kwasu masłowego w treści pokarmowej jelita ślepego. Koncentracja SCFA zmienia się na skutek gromadzenia się w dystalnej części jelita nie w pełni trawionych i wchłanianych w jelicie cienkim substratów diety, w tym białka i NSP. Białko, w tym oporne białko pokarmowe, białko mikrobiologiczne i białko, które nie uległo strawieniu, syntetyzowane przez gospodarza, może dotrzeć do jelita ślepego i zostać pobrane przez bakterie fermentacji białkowej. W wyniku tego może dojść do wytworzenia wyższych stężeń rozgałęzionych SCFA, co wskazuje na niekorzystne warunki panujące w jelicie ślepym (Konieczka i wsp., 2021). W obecnym badaniu stężenia kwasów izowalerianowego i walerianowego, a także kwasów będących produktami bakteryjnego rozkładu białek nie uległy zmianie, co wskazuje, że diety z udziałem RRC, HRC i FRC nie zmniejszały wykorzystania białka przez kury nioski i nie indukowały procesów gnilnych, które prowadzą do uwalniania produktów końcowych uważanych za szkodliwe dla gospodarza (Apajalahti i Vienola, 2016).

6. PODSUMOWANIE

Uzyskane wyniki pozwalają na sformułowanie następujących wniosków:

- obróbka hydrobarotermiczna w niewielkim stopniu wpływa na zawartość podstawowych składników pokarmowych w makuchu rzepakowym, obniża jednak koncentrację glukozynolanów w porównaniu do makuchu surowego; proces fermentacji miał korzystniejszy wpływ na wartość odżywczą makuchu rzepakowego nieznacznie zwiększając w nim zawartość białka ogólnego oraz istotnie obniżając koncentrację glukozynolanów i fosforu fitynowego,
- fermentowany makuch rzepakowy pozwala uzyskać najkorzystniejsze wyniki produkcyjne spośród wszystkich zastosowanych komponentów rzepakowych, utrzymując poziom nieśności porównywalny z grupą kontrolną,
- zastosowanie fermentowanego makuchu rzepakowego w dietach dla niosek zwiększa koncentrację trójjodotyroniny (T3) oraz Ca i P we krwi niosek, poprawia potencjał antyoksydacyjny żółtek jaj oraz wskaźniki jakości białka, może jednak zmniejszać grubość skorupy jaj,
- niezależnie od formy, makuch rzepakowy wydaje się wartościowym komponentem pasz dla kur nieśnych, ponieważ poprawia strawność tłuszczu surowego, a także działa korzystnie na poprawę profilu kwasów tłuszczowych żółtek jaj, nie indukując niepożądanych zmian antyoksydacyjnych i nie pogarszając ich jakości sensorycznej,
- wszystkie diety z udziałem makuchu rzepakowego wpływają na aktywność enzymów mikrobiologicznych w jelitach w porównaniu z dietą opartą na poekstrakcyjnej śrucie sojowej; najbardziej korzystny wpływ wywierał makuch fermentowany, który zwiększył aktywność α-glukozydazy i α-arabinopiranozydazy oraz zmniejszył aktywność β-glukuronidazy, utrzymując stężenie SCFA na poziomie porównywalnym z grupą kontrolną.

Podsumowując wyniki opisywanych badań można stwierdzić, że obróbka hydrobarotermiczna, a przede wszystkim fermentacja poprawia wartość pokarmową pasz rzepakowych zmniejszając w nich koncentrację związków antyżywieniowych. W konsekwencji, zarówno makuch rzepakowy poddany obróbce hydrobarotermicznej, jak i fermentowany mogą być cennym komponentem mieszanek paszowych dla kur nieśnych, jednak najbardziej przydatnym wydaje się być makuch fermentowany, ponieważ pozwala

osiągnąć najlepsze wyniki nieśności oraz działa najkorzystniej na status zdrowotny i funkcjonowanie przewodu pokarmowego ptaków.

7. PIŚMIENNICTWO

1. Ahmadi, M. The effect of different levels of rapeseed meal with and without enzyme on the performance and the serum level of triiodothyronine (T3), thyroxine (T4) and thyroid stimulating hormone (TSH) in broiler chickens. Iran. J. Appl. Anim. Sci. 2016, 6: 203–209.
2. Ahmed, A.; Zulkifli, I.; Farjam, A.S.; Abdullah, N.; Liang, J.B. Extrusion enhances metabolizable energy and ileal amino acids digestibility of canola meal for broiler chickens. Ital. J. Anim. Sci. 2014, 13: 3032.
3. Al-Asheh, S.; Duvnjak, Z. Phytase production and decrease of phytic acid content in canola meal by *Aspergillus carbonarius* in solid state fermentation. World J. Microbiol. Biotechnol. 1995, 11, 228–231.
4. An, S.Y.; Guo, M.Y.; Ma, S.D.; Yuan, M.J.; Liu, G.Z. Effect of different oil sources and vitamin E in breeder diet on egg quality, hatchability and development of the neonatal offspring. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 2010, 23, 234–239.
5. Angelovičová, M.; Angelovič, M. Rapeseed Cakes as an Important Feed Raw Material for Laying Hens. Sci. Pap. Anim. Sci. Biotechnol. 2013, 46, 335–338.
6. Antonissen, G.; Eeckhaut, V.; Van Driessche, K.; Onrust, L.; Haesebrouck, F.; Ducatelle, R.; Moore, R.J.; Van Immerseel, F. Microbial shifts associated with necrotic enteritis. Avian Pathol. 2016, 45: 308–312.
7. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, USA, 2007.
8. Apajalahti, J.; Vienola, K. Interaction between chicken intestinal microbiota and protein digestion. Anim. Feed Sci. Technol. 2016, 221: 323–330.
9. Beaud, D.; Tailliez, P.; Anba-Mondolon, J. Genetic characterization of the glucuronidase enzyme from a human intestinal bacterium, *Ruminococcus gnavus*. Microbiology. 2005, 151: 2323–2330
10. Bedekovic, D.; Pintar, J.; Janjecic, Z.; Mužic, S.; Kos, I. Using Rapeseed Cake to Improve Fatty Acid Composition of Turkey Meat. J. Agr. Sci. Technol. 2014, 16, 1279–1287.
11. Boros, D.; Gołębiewska, K. Badanie czynników determinujących niską strawność białka śruty uzyskanej z nasion rzepaku ozimego. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin. 2019. 26, 193-194.

12. Botsoglou, N.A.; Fletouris, D.J.; Papageorgiou, G.E.; Vassilopoulos, V.N.; Mantis, A.J.; Trakatellis, A.G. Rapid sensitive and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food and feed-stuff samples. J. Agr. Food Chem. 1994, 42, 1931–1937.
13. Buckiuniene, V.; Alencikiene, G.; Miezeliene, A.; Raceviciute-Stupeliene, A.; Bliznikas, S.; Gruzauskas, R. Effect of sunflower and rapeseed oil, organic and inorganic selenium and vitamin e in the diet on yolk fatty acids profile, malondialdehydes concentration and sensory quality of laying hens eggs. Vet. Med. Zoot. 2018, 76, 21–28.
14. Chiang, L.; Lu, W.Q.; Piao, X.S.; Hu, J.K.; Gong, L.M.; Thacker, P.A. Effects of feeding solid-state fermented rapeseed meal on performance, nutrient digestibility, intestinal ecology and intestinal morphology of broiler chickens. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 2010, 23, 263–271.
15. Chibowska, M.; Smulikowska, S.; Pastuszewska, B. Metabolisable energy value of rapeseed meal and its fractions for chickens as affected by oil and fibre content. J. Anim. Feed Sci. 2000, 9: 371–378.
16. Czech, A.; Grela, E.R.; Kiesz, M.; Kłys, S. Biochemical and haematological blood parameters of sows and piglets fed a diet with a dried fermented rapeseed meal. Ann. Anim. Sci. 2020, 20: 535–550.
17. Dahiya, D.; Nigam, P.S. Probiotics, prebiotics, synbiotics, and fermented foods as potential biotics in nutrition improving health via Microbiome-Gut-Brain axis. Ferment. 2022, 8: 303.
18. Dänicke, S.; Kracht, W.; Jeroch, H.; Zachmann, R.; Heidenreich, E.; Löwe, R. Effect of different technical treatments of rapeseed on the feed value for broilers and laying hens. Arch. Anim. Nutr. 1998, 51, 53–62.
19. De Moreno de LeBlanc, A.; Perdigo, G. Reduction of glucuronidase and nitroreductase activity by yoghurt in a murine colon cancer model. Biocell. 2005, 29: 15–24.
20. Di Carlo, G.; Autore, G.; Izzo, A.A.; Maiolino, P.; Mascolo, N.; Viola, P.; Diurno, M.V.; Capasso, F. Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationships J. Pharm. Pharmacol. 1993, 45: 1054–1059.
21. Drażbo, A.; Juśkiewicz, J.; Józefiak, A.; Konieczka, P. The fermentation process improves the nutritional value of rapeseed cake for turkeys – effects on performance, gut bacterial population and its fermentative activity. Animals. 2020, 10: 1711.

22. Drażbo, A.; Kozłowski, K.; Ognik, K.; Zaworska, A.; Jankowski, J. The effect of raw and fermented rapeseed cake on growth performance, carcass traits, and breast meat quality in turkey. Poult. Sci. 2019, 98, 6161–6169.
23. Drażbo, A.; Mikulski, D.; Jankowski, J.; Zduńczyk, Z. The effect of diets containing raw and fermented faba beans on gut functioning and growth performance in young turkeys. J. Anim. Feed Sci. 2018a, 27, 65–73.
24. Drażbo, A.; Ognik, K.; Zaworska, A.; Ferenc, K.; Jankowski, J. The effect of raw and fermented rapeseed cake on the metabolic parameters, immune status, and intestinal morphology of turkeys. Poult. Sci. 2018b, 97: 3910–3920.
25. Ebune, A.; Al-Asheh, S.; Duvnjak, Z. Production of phytase during solid state fermentation using *Aspergillus ficuum* NRRL 3135 in canola meal. Bioresour. Technol. 1995, 53, 7–12.
26. Elangovan, A.V.; Verma, S.V.S.; Sastry, V.R.B.; Singh, S.D. Effect of Feeding High Glucosinolate Rapeseed Meal to Laying Japanese Quail. Asian-Aust, J. Anim. Sci. 2001, 14, 1304–1307.
27. Elbaz, A.M. Effects of diet containing fermented canola meal on performance, blood parameters, and gut health of broiler chickens. J. World Poult. Res. 2021, 11: 01–07.
28. Engberg, R.M.; Hammershoj, M.; Johansen, N.F.; Abousekken, M.S.; Steenfeldt, S.; Jensen, B.B. Fermented feed for laying hens: Effects on egg production, egg quality, plumage condition and composition and activity of the intestinal microflora. Br. Poult. Sci. 2009, 50, 228–239.
29. Englyst, H.N.; Cummings, J.H. Improved method for the determination of dietary fiber as non-starch polysaccharides in plant foods. J. AOAC Int. 1988, 71, 808–814.
30. Englyst, H.N.; Cummings, J.H. Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. Analyst 1984, 109, 937–942.
31. European Food Safety Authority. Glucosinolates as undesirable substances in animal feed. EFSA J. 2008, 590: 1–76.
32. Faitarone, A.B.G.; Garcia, E.A.; Roca, R.O.; Andrade, E.N.; Vercese, F.; Pelicia, K. Yolk Color and Lipid Oxidation of the Eggs of Commercial White Layers Fed Diets Supplemented with Vegetable Oils. Rev. Bras. Cienc. Avic. 2016, 18, 9–16.
33. FAO. Food Outlook—Biannual Report on Global Food Markets: June 2020; FAO: Rome, Italy, 2020. Available online: https://reliefweb. int/report/world/food-outlook-biannual-report-global-food-markets-june-2020 (accessed on 11 June 2020).

34. Favé, G.; Coste, T.C.; Armand, M. Physicochemical properties of lipids: New strategies to manage fatty acid bioavailability. Cell. Mol. Biol. 2004, 50, 815–831.
35. Fazhi, X.; Lvmu, L.; Jiaping, X.; Kun, Q.; Zhide, Z.; Zhangyi, L. Effects of Fermented Rapeseed Meal on Growth Performance and Serum Parameters in Ducks. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 2011, 24, 678–684.
36. Feng, D.; Zuo, J. Nutritional and anti-nutritional composition of rapeseed meal and its utilization as a feed ingredient foranimal. In Proceedings of the 12th IRC Rapeseed Conference, Wuhan, China, 26–30 March 2007a; pp. 265–270.
37. Feng, J.; Liu, X.; Liu, Y.Y.; Xu, Z.R.; Lu, Y.P. Effects of *Aspergillus oryzae* 3.042 fermented soybean meal on growth performance and plasma biochemical parameters in broilers. Anim. Feed Sci. Technol. 2007b, 134: 235–242.
38. Fenwick, G.R.; Curl, C.L.; Butler, E.J.; Greenwood, N.M.; Pearson, A.W. Rapeseed meal and egg taint: Effects of low glucosinolate *Brassica napus* meal, dehulled meal and hulls, and of neomycin. J. Sci. Food Agric. 1984, 35, 749–756.
39. Fenwick, G.R.; Spinks, E.A.; Wilkinson, A.P.; Heany, R.K.; Legoy, M.A. Effect of processing on the antinutrient content of rape seed. J. Sci. Food Agric. 1986, 37, 735–741.
40. Folch, J.; Lees, M.; Sloane-Stanley, G.H. A simple method for isolation and purification of total lipides from animal tissues. J. Biol. Chem. 1957, 226, 497–509.
41. Fu, Z.; Su, G.; Yang, H.; Sun, Q.; Zhong, T.; Wang, Z. Effects of dietary rapeseed meal on growth performance, carcass traits, serum parameters, and intestinal development of geese. Animals. 2021, 11: 1488.
42. Gao, M.; Cieślak, A.; Kierończyk, B.; Huang, H.; Yanza, Y.R.; Zaworska-Zakrzewska, A.; Józefiak, D.; Szumacher-Strabel, M. Effects of Raw and Fermented Rapeseed Cake on Growth Performance, Methane Production, and Breast Meat Fatty Acid Composition in Broiler Chickens. Animals 2020, 10, 2250.
43. Gay, C.; Gebicki, J.M. Perchloric acid enhances sensitivity and reproducibility of the ferric-xylenol orange peroxide assay. Anal. Biochem. 2002, 304, 42–46.
44. Goldberg, E.M.; Ryland, D.; Alianj, M.; House, J.D. Interactions between canola meal and flaxseed oil in the diets of White Lohmann hens on fatty acid profile and sensory characteristics of table eggs. Poult. Sci. 2016, 94, 1805–1812.
45. Goodarzi Boroojeni, F.; Kozłowski, K.; Jankowski, J.; Senz, M.; Wisniewska, M.; Boros, D.; Drażbo, A.; Zentek, J. Fermentation and enzymatic treatment of pea for turkey nutrition. Anim. Feed Sci. Technol. 2018, 237: 78–88.

46. Greenwald, R.A. CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 1985.
47. Grigorova, S.; Surdjiiska, S.; Gjorgovska, N. Effects of the use of high-protein rapeseed feed on laying productivity and egg quality in japanese quails. Scientific Pap. Ser. D Anim. Sci. 2017, 60, 85–90.
48. Halle, I.; Schöne, F. Influence of rapeseed cake, linseed cake and hemp seed cake on laying performance of hens and fatty acid composition of egg yolk. J. Verbrauch. Lebensm. 2013, 8, 185–193.
49. Haug, W.; Lantzsch, H.J. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. J. Sci. Food Agric. 1983, 34,1423–1426.
50. Haugh, R.R. The Haugh unit for measuring egg quality. US Egg Poult. Mag. 1937, 43, 522–555.
51. Hill, F.N.; Anderson, D.L. Comparison of metabolizable energy and productive Energy determinations with determinations with growing chicks. J. Nutr. 1958, 64: 587–603.
52. Hofirek, B.; Haas, D. Comparative studies of ruminal fluid collected by oral tube or by puncture of the caudorental ruminal sac. Acta Vet. Brno. 2001, 70: 27–33.
53. Hu, Y.; Wang, Y.; Li, A.; Wang, Z.; Zhang, X.; Yun, T.; Qiu, L.; Yin, Y. Effects of fermented rapeseed meal on antioxidant functions, serum biochemical parameters and intestinal morphology in broilers. Food Agric. Immunol. 2016, 27: 182–193.
54. Huang, S.; Liang, M.; Lardy, G.; Huff, H.E.; Kerley, M.S.; Hsieh, F. Extrusion processing of rapeseed meal for reducing glucosinolates. Anim. Feed Sci. Technol. 1995, 56, 1–9.
55. Hy-Line Brown Commercial Layers. 2018. Management Guide. Accessed Jan. 2019. https://www.hyline.com.
56. International Dairy Federation. Provisional Standard (159): Milk and Milk Fat Product-Determination of Cholesterol Content; IDF: Brussels, Belgium, 1992.
57. ISO 2012. Sensory Analysis—General Guidelines for the Selection, Training and Monitoring of Selected Assessors and Expert Sensory Assessors; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2012.
58. Jakobsen, G.V.; Jensen, B.B.; Knudsen, K.E.B.; Canibe, N. Improving the nutritional value of rapeseed cake and wheat dried distillers grains with soluble by addition of enzymes during liquid fermentation. Anim. Feed Sci. Technol. 2015, 208: 198–213.
59. Jeroch, H.; Dänicke, S.; Zachmann, R. Zum Futterwert und zur Eignung von Rapsexpellern in der Legehennenfütterung. Agribiol. Res. 1995, 48, 248–256.

60. Jeroch, H.; Jankowski, J.; Schöne, F. Rapsfuttermittel in der Broiler- und Legehennenfütterung. Arch. Geflügelk. 2008, 72, 49–55.
61. Jia, W.; Mikulski, D.; Rogiewicz, A.; Zduńczyk, Z.; Jankowski, J.; Slominski, B.A. Lowfiber canola. Part 2. Nutritive value of the meal. J. Agric. Food Chem. 2012, 60: 12231–12237.
62. Jia, W.; Slominski, B.A.; Guenter, W.; Humphreys, A.; Jones, O. The effect of enzyme supplementation on egg production parameters and omega-3 fatty acid deposition in laying hens fed flaxseed and canola seed. Poult. Sci. 2008, 87, 2005–2014.
63. Juśkiewicz, J.; Zduńczyk, Z. Lactulose-induced diarrhoea in rats: effects on caecal development and activities of microbial enzymes. Comp. Biochem. Phys. A. 2002, 133: 411– 417.
64. Kaczmarek, P.; Korniewicz, D.; Lipiński, K.; Mazur, M. Chemical composition of rapeseed products and their use in pig nutrition. Pol. J. Natur. Sc. 2016, 31, 545–562.
65. Keum, Y.S.; Jeong, W.S.; Kong, A.N. Chemoprevention by isothiocyanates and their underlying molecular signaling mechanisms. Mutat. Res. 2004, 555: 191–202.
66. Khajali, F.; Slominski, A. Factors that affect the nutritive value of canola meal for poultry. Poult. Sci. 2012, 91, 2564–2575.
67. Knudsen, K.E. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. Anim. Feed Sci. Technol. 1997, 67, 319–338.
68. Kocher, A.; Choct, M.; Porter, M.; Broz, J. The effects of enzyme addition to broiler diets containing high concentrations of canola or sunflower meal. Poult. Sci. 2000, 79: 1767–1774.
69. Konieczka, P.; Mikulski, D.; Ognik, K.; Juśkiewicz, J.; Zduńczyk, Z.; Jankowski, J. Increased dietary inclusion levels of lysine are more effective than arginine in supporting the functional status of the gut in growing turkeys. Animals. 2021, 11: 2351.
70. Kopacz, M.; Drażbo, A.; Śmiecińska, K.; Ognik, K. Performance and egg quality of laying hens fed diets containing raw, hydrobarothermally-treated and fermented rapeseed cake. Animals. 2021, 11: 3083.
71. Koppenol, A.; Delezie, E.; Aerts, J.; Willems, E.; Wang, Y.; Franssens, L.; Everaert, N.; Buyse, J. Effect of the ratio of dietary n-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on broiler breeder performance, egg quality, and yolk fatty acid composition at different breeder ages. Poult. Sci. 2014, 93, 564–573.

72. Kozłowski, K.; Jankowski, J.; Jeroch, H. Efficacy of different levels of Escherichia coli phytase in hens fed maize-soyabean meal based diets with a decreased non-phytate phosphorus content. J. Anim. Feed Sci. 2011, 20, 224–235.
73. Kozłowski, K.; Jeroch, H. Enhancing the Nutritional Value of Poultry Feedstuffs Using the Example of Rapeseed Products—A Review. Ann. Anim. Sci. 2014, 14, 245–256.
74. Leslie, A.; Summers, J. Feeding value of rapeseed for laying hens. Can. J. Anim. 1972, 52, 563–566.
75. Lichovníková, M.; Klecker, D.; Zeman, L. The effect of extruded rapeseed feed on laying performance and quality of eggs. Czech J. Anim. Sci. 2000, 45, 493–499.
76. Lichovníková, M.; Zeman, L.; Jandásek, J. The effect of feeding untreated rapeseed and iodine supplement on egg quality. Czech J. Anim. Sci. 2008, 53, 77–82.
77. Lichovníková, M.; Zeman, L.; Kracmar, S.; Klecker, D. The effect of the extrusion proces on the digestibility of feed given to laying hens. Anim. Feed Sci. Technol. 2004, 116: 313–318.
78. Lim, H.S.; Namkung, H.; Paik, I.K. Effects of phytase supplementation on the performance, egg quality, and phosphorous excretion of laying hens fed different levels of dietary calcium and nonphytate phosphorous. Poult. Sci. 2003, 82, 92–99.
79. Lv, J.; Guo, L.; Chen, B.; Hao, K.; Ma, H.; Liu, Y.; Min, Y. Effects of different probiotic fermented feeds on production performance and intestinal health of laying hens. Poult. Sci. 2020, 101: 101570.
80. MacLean, C.H.; Newberry, S.J.; Mojica, W.A.; Khanna, P.; Issa, A.M.; Suttorp, M.J.; Lim, Y.W.; Traina, S.B.; Hilton, L.; Garland, R.; et al. Effects of omega-3 fatty acids on cancer risk: A systematic review. JAMA 2006, 295, 403–415.
81. Mawson, R.; Heaney, R.; Zduńczyk, Z.; Kozłowska, H. Rapeseed meal-glucosinolates and their antinutritional effects. Part 5. Animal reproduction. Food/Nahrung 1994, 38, 588–598.
82. Mawson, R.; Heaney, R.K.; Zduńczyk, Z.; Kozłowska, H. Rapeseed meal-glucosinolates and their antinutritional effects. Part 6. Taint in end-products. Food/Nahrung 1995, 39, 21–31.
83. Milošević, N.; Stanaćev, V.; Perić, L.; Žikić, D.; Dukić-Stojčić, M.; Milić, D. Use extruded rapeseed meal in the feed of broiler chickens. Biotechnol. Anim. Husb. 2011, 27, 1681–1687.

84. Naji, S.A.; Al-Zamili, I.F.; Hassan, B.; Jawad, A.S.; Al-Gharawi, J.K.M. The effect of fermented feed on broiler production and intestinal morphology. Pertanika J. Trop. Agric. Sci. 2016, 39: 97–607.
85. Najib, H.; Al-Khateeb, S.A. The effect of incorporating different levels of locallyproduced canola seeds (*Brassica napus* L.) in the diet of laying hen. Int. J. Poult. Sci. 2004, 3, 490–496.
86. Newkirk, R.W.; Classen, H.L. The effects of toasting canola meal on body weight, feed conversion efficiency, and mortality in broiler chickens. Poult. Sci. 2002, 81, 815–825.
87. Ognik, K.; Krauze, M. The potential for using enzymatic assays to assess the health of turkeys. World's Poult. Sci. J. 2016, 72, 535–550.
88. OJEU. Directive 2010/63/EU of the European parliament and of the council on the protection of animals used for scientific purposes. Off. J. Eur. Union. 2010, 276, 33–79.
89. Osek, J.; Gallien, P. Molecular analysis of *Escherichia coli* O157 strains isolated from cattle and pigs by the use of PCR and pulsed-field gel electrophoresis methods. Vet. Med.-Czech 2002, 47, 149–158.
90. Panaite, T.D.; Turcu, R.P.; Soica, C.; Visinescu, P. Nutritional parameters of eggs from laying hens fed with flaxseed meal or mixture with rapeseed meal or rice bran. J. Appl. Anim. Res. 2020, 48, 566–574.
91. Peisker, K.V. A rapid semi-micro method for preparation of methyl esters from triglycerides using chloroform, methanol, sulphuric acid. J. Am. Oil. Chem. Soc. 1964, 41, 87–88.
92. Rajput, I.R.; Li, Y.L.; Xu, X.; Huang, Y.; Zhi, W.C.; Yu, D.Y.; Li, W. Supplementary Effects of Saccharomyces boulardii and *Bacillus subtilis* B10 on Digestive Enzyme Activities, Antioxidation Capacity and Blood Homeostasis in Broiler. Int. J. Agric. Biol. 2013, 15, 231–237.
93. Razdan, A.; Pettersson, D.; Pettersson, J. Broiler chickenbody weights, feed intakes, plasma lipid and small-intestinal bileacid concentrations in response to feeding of chitosan and pectin. Br. J. Nutr. 1997, 78, 283–291.
94. Recoules, E.; Lessire, M.; Labas, V.; Duclos, M.J.; Combes-Soia, L.; Lardic, L.; Peyronnet, C.; Quinsac, A.; Narcy, A.; Réhault-Godbert, S. Digestion dynamics in broilers fed rapeseed meal. Sci. Rep. 2009, 9: 3052.
95. Riyazi, S.R.; Ebrahimnezhad, Y.; Nazeradl, K.; Maheri-Sis, N.; Salamatdust, R.; Vahdatpour, T. The effects of replacing soybean meal with different levels of Vet. Adv. 2009, 4, 337–341.

96. Roberts, J.R. Factors Affecting Egg Internal Quality and Egg Shell Quality in Laying Hens. J. Poult. Sci. 2004, 41, 161–177.
97. Sasyte, V.; Grashorn, M.A.; Klementaviciute, J.; Viliene, V.; Raceviciute-Stupeliene, A.; Gruzauskas, R.; Dauksiene, A.; Alijosius, S. Effect of extruded full-fat rapeseed on egg quality in laying hens. Eur. Poult. Sci. 2017, 81, 201.
98. Savary, R.K.; MacIsaac, J.; Rathgeber, B.M.; McLean, N.L.; Anderson, D.M. Evaluating *Brassica napus* and *Brassica juncea* meals with supplemental enzymes for use in brown-egg laying hen diets: Production performance and egg quality factors. Can. J. Anim. Sci. 2019, 99, 820–832.
99. Skřivan, M.; Englmaierová, M.; Skřivanová, V. Negative Effect of Phytase Superdosing in Laying Hens. Czech J. Anim. Sci. 2018, 63, 182–187.
100. Slominski, B.A.; Campbell, L.D. Gas chromatographic determination of indole glucosinolates-a re-examination. J. Sci. Food Agric. 1987, 40, 131–143.
101. Slominski, B.A.; Campbell, L.D. Non-starch polysaccharides of canola meal: Quantification, digestibility in poultry and potential benefit of dietary enzyme supplementation. J. Sci. Food Agric. 1990, 53, 175–184.
102. Smulikowska, S.; Czerwiński, J.; Mieczkowska, A. Nutritional value of rapeseed expeller cake for broilers: Effect of dry extrusion. J. Anim. Feed Sci. 2006, 15, 447–455.
103. Smulikowska, S.; Rutkowski, A. (Eds.) Recommended Allowances and Nutritive Value of Feedstuffs. In Poultry Feeding Standards, 5th ed.; The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, PAS: Jabłonna, Poland, 2018.
104. Stahly, T.S.; Williams, N.H.; Zimmerman, D.R. Impact of carbide on rate, efficiency and composition of growth in pigs with a low and high level of immune system activation. J. Anim. Sci. 1994, 72: 165–174.
105. Straková, E.; Všetičková, L.; Kutlvašr, M.; Timová, I.; Suchý, P. Beneficial effects of substituting soybean meal for white lupin (*Lupinus albus*, cv. Zulika) meal on the biochemical blood parameters of laying hens. Ital. J. Anim. Sci. 2021, 20: 352–358.
106. Strychalski, J.; Juśkiewicz, J.; Gugołek, A.; Wyczling, P.; Daszkiewicz, T.; Zwoliński, C. Usability of rapeseed cake and wheat-dried distillers' grains with solubles in the feeding of growing Californian rabbits. Arch. Anim. Nutr. 2014, 68: 227–244.
107. Sugiharto, S.; Ranjitkar, S. Recent advances in fermented feeds towards improved broiler chicken performance, gastrointestinal tract microecology and immune responses: A review. Anim. Nutr. 2019, 5: 1–10.

108. Świątkiewicz, S.; Koreleski, J. Effect of crude glycerin level in the diet of laying hens on egg performance and nutrient utilization. Poult. Sci. 2009, 88, 615–619.
109. Świątkiewicz, S.; Koreleski, J.; Arczewska, A. Laying performance and eggshell quality in laying hens fed diets supplemented with prebiotics and organic acids. Czech J. Anim. Sci. 2010, 55, 294–306.
110. Szydłowska-Czerniak, A. Rapeseed and its Products-Sources of Bioactive Compounds: A Review of their Characteristics and Analysis. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2013, 53, 307–330.
111. Tang, S.G.H.; Sieo, C.C.; Ramasamy, K.; Saad, W.Z.; Wong, H.E.; Ho, Y.W. Performance, biochemical and haematological responses, and relative organ weights of laying hens fed diets supplemented with prebiotic, probiotic and synbiotic. BMC Vet. Res. 2017, 13: 248.
112. Thomas, D.; Robblee, A.R.; Clandinin, D.R. Effects of low and high glucosinolate rapeseed meals on productive performance, egg quality, composition of liver and incidence of haemorrhagic liver syndrome in laying birds. Br. Poult. Sci. 1978, 19, 449–454.
113. Thompson, R.H.; Tood, J. Muscle damage in chronic copper poisoning of sheep. Res. Vet. Sci. 1994, 16: 97–102.
114. Tomaszewska, E.; Muszyński, S.; Arczewska-Włosek, A.; Domaradzki, P.; Pyz-Łukasik, R.; Donaldson, J.; Swiątkiewicz, S. Cholesterol Content, Fatty Acid Profile and Health Lipid Indices in the Egg Yolk of Eggs from Hens at the End of the Laying Cycle, Following Alpha-Ketoglutarate Supplementation. Foods, 2021, 10, 596.
115. Tripathi, M.K.; Mishra, A.S. Glucosinolates in animal nutrition: A review. Anim. Feed Sci. Technol. 2007, 132, 1–27.
116. Vig, A.P.; Walia, A. Beneficial effects of *Rhizopus oligosporus* fermentation on reduction of glucosinolates, fibre and phytic acid in rapeseed (*Brassica napus*) meal. Bioresour. Technol. 2001, 78, 309–312.
117. Wang, H.; Zhang, H.J.; Wang, X.C.; Wu, S.G.; Wang, J.; Xu, L.; Qi, G.H. Dietary choline and phospholipid supplementation enhanced docosahexaenoic acid enrichment in egg yolk of laying hens fed a 2% Schizochytrium powder-added diet. Poult. Sci. 2017, 96, 2786–2794.
118. Ward, A.K.; Classen, H.L.; Buchanan, F.C. Fishy-egg tainting is recessively inherited when brown-shelled layers are fed canola meal. Poult. Sci. 2009, 88, 714–721.

119. Xu, F.; Li, L.; Xu, J.; Qian, K.; Zhang, Z.; Liang, Z. Effects of fermented rapeseed meal on growth performance and serum parameters in ducks. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 2011, 24: 678– 684.
120. Yadav, S.; Teng, P.Y.; Choi, J.; Singh, A.K.; Vaddu, S.; Thippareddi, H.; Kim, W.K. Influence of rapeseed, canola meal and glycosylate metabolite (AITC) as potential antimicrobials: effects on growth performance, and gut health in *Salmonella typhimurium* challenged broiler chickens. Poult. Sci. 2022, 101: 101551.
121. Yang, R.L.; Li, W.; Shi, Y.H.; Le, G.W. Lipoic acid prevents high-fat diet-induced dyslipidemia and oxidative stress: A microarray analysis. Nutrition 2008, 24, 582–588.
122. Yeum, K.J.; Russell, R.M. Carotenoid bioavailability and bioconversion. Annu. Rev. Nutr. 2002, 22, 483–504.
123. Zaworska, A.; Kasprowicz-Potocka, M.; Frankiewicz, A.; Zduńczyk, Z.; Jaśkiewicz, J. Effects of fermentation of narrow-leafed lupine (*L. angustifolius*) seeds on their chemical composition and physiological parameters in rats. J. Anim. Feed Sci. 2016, 25, 326–334.
124. Zduńczyk, Z.; Jankowski, J.; Juśkiewicz, J.; Mikulski, D.; Slominski, B.A. Effect of different dietary levels of low-glucosinolate rapeseed (canola) meal and non-starch polysaccharide-degrading enzymes on growth performance and gut physiology of growing turkeys. Can. J. Anim. Sci. 2013, 93: 353–362.
125. Zentek, J.; Goodarzi-Boroojeni, F. (Bio)Technological processing of poultry and pig feed: Impact on the composition, digestibility, anti-nutritional factors and hygiene. Anim. Feed Sci. Technol. 2020, 268, 114576.
126. Zhu, F.; Zhang, B.; Li, J.; Zhu, L. Effects of fermented feed on growth performance, immune response, and antioxidant capacity in laying hen chicks and the underlying molecular mechanism involving nuclear factor-kB. Poult. Sci. 2020, 99: 2573–2580.
127. Zhu, L.P.; Wang, J.P.; Ding, X.M.; Bai, S.P.; Zeng, Q.F.; Su, Z.W.; Xuan, Y.; Zhang, K.Y. The deposition and elimination of glucosinolate metabolites derived from rapeseed meal in eggs of laying hens. J. Agric. Food Chem. 2018a, 66: 1560–1568.
128. Zhu, L.P.; Wang, J.P.; Ding, X.M.; Bai, S.P.; Zeng, Q.F.; Su, Z.W.; Xuan, Y.; Zhang, K.Y. Effects of dietary rapeseed meal on laying performance, egg quality, apparent metabolic energy, and nutrient digestibility in laying hens. Livest. Sci. 2018b, 214, 265–271.
129. Zhu, L.P.; Wang, J.P.; Ding, X.M.; Bai, S.P.; Zeng, Q.F.; Su, Z.W.; Xuan, Y.; Applegate, T.J.; Zhang, K.Y. The effects of varieties and levels of rapeseed expeller cake on egg

production performance, egg quality, nutrient digestibility, and duodenum morphology in laying hens. Poult. Sci. 2019, 98, 4942–4953.

8.STRESZCZENIE

Celem badań było określenie wpływu 20% udziału surowego makuchu rzepakowego (RRC) oraz poddanego obróbce hydrobarotermicznej (HRC) i procesowi fermentacji (FRC) w dietach dla kur nieśnych na wyniki produkcyjne, wybrane wskaźniki jakości jaj, profil kwasów tłuszczowych i status antyoksydacyjny żółtek jaj oraz wskaźniki biochemiczne krwi i funkcjonowanie jelit u ptaków. Łącznie 304 kury nioski Hy-Line Brown w wieku 36 tygodni zostały rozdzielone w całkowicie losowym układzie do czterech grup doświadczalnych z 38 powtórzeniami na grupę i 2 kurami na klatkę. Ptaki miały swobodny dostęp do paszy i wody przez cały czas trwania doświadczenia. Podczas doświadczenia ptaki były żywione izobialkowymi i izokalorycznymi dietami, które różnicowano źródłem białka. W grupie kontrolnej (C) głównym źródłem białka w diecie była PSS, podczas gdy grupy doświadczalne żywione były dietami zawierającymi 20% udział RRC, HRC lub FRC. Obróbka hydrobarotermiczna i fermentacja zmniejszyły zawartość glukozynolanów (GLS), fermentacja dodatkowo obniżyła koncentrację fosforu fitynowego (FF) w makuchu rzepakowym. W porównaniu z grupą RRC, nioski z grup HRC i FRC charakteryzowały się wyższą wydajnością nieśną, porównywalną z grupą C. Niezależnie od postaci, RRC dodawany do diet kur nieśnych niekorzystnie wpływał na jakość skorupy jaj, podczas gdy jakość białka była najwyższa w grupie FRC. W porównaniu z grupą C, diety zawierające RRC, HRC i HRC prowadziły do znacznego spadku zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych, wzrostu udziału wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) n-3 i n-6 w całkowitej puli kwasów tłuszczowych w żółtkach jaj oraz spadku stosunku PUFA n-6/n-3. Włączenie RRC, HRC i FRC do diety kur nieśnych zmniejszyło aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w żółtkach jaj, w porównaniu z grupą C. Jaja grupy FRC charakteryzowały się najwyższą aktywnością katalazy (CAT) i najniższym stężeniem nadtlenków lipidów (LOOH), w porównaniu z pozostałymi grupami. Dodatek RRC nie wpłynął negatywnie na jakość sensoryczną jaj, a te pozyskane z grupy FRC uzyskały najwyższą ocenę ogólną. Zarówno HRC, jak i FRC zwiększyły stężenie białka całkowitego (TP) i globuliny (GLB) w surowicy, w porównaniu z grupą C. Kury z grupy HRC miały pożądanie najniższy poziom triacylogliceroli (TAG) we krwi i aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AST). Kury z grupy FRC charakteryzowały się najniższą aktywnością fosfatazy alkalicznej (ALP) oraz najwyższą - zawartością fosforu (P) i trójjodotyroniny (T3). Niezależnie od formy RRC poprawił strawność tłuszczu surowego (TS) i zmniejszył strawność suchej masy (SM) oraz retencję wapnia (Ca). W porównaniu z grupą C - RRC, HRC i FRC zmniejszyły masę treści pokarmowej w jelicie

ślepym i zwiększyły aktywność bakteryjnej α-galaktozydazy i ß-galaktozydazy. HRC zwiększyło również stężenie amoniaku w jelicie ślepym i zmniejszyło aktywność β-ksylozydazy. Aktywność α-glukozydazy i α-arabinopiranozydazy była najwyższa, a aktywność bakteryjnej β-glukuronidazy była najniższa w jelicie ślepym kur z grupy FRC. Stężenie kwasu octowego, propionowego i krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) w jelicie ślepym było najwyższe u ptaków z grupy RRC, a najniższe w grupie HRC. Można stwierdzić, że włączenie 20% RRC, HRC i FRC do diety kur nieśnych nie wpływa negatywnie na jakość sensoryczną jaj i ma korzystny wpływ na profil kwasów tłuszczowych oraz potencjał antyoksydacyjny żółtek. Podsumowując, obróbka hydrobarotermiczna, a przede wszystkim fermentacja poprawia wartość pokarmową pasz rzepakowych zmniejszając w nich koncentrację związków antyżywieniowych. W konsekwencji, zarówno makuch rzepakowy poddany obróbce hydrobarotermicznej, jak i fermentowany mogą być cennym komponentem mieszanek paszowych dla kur nieśnych, jednak najbardziej przydatnym wydaje się być makuch fermentowany, ponieważ pozwala osiągnąć najlepsze wyniki nieśności oraz działa najkorzystniej na status zdrowotny i funkcjonowanie przewodu pokarmowego ptaków.

Słowa kluczowe: kura nioska, makuch rzepakowy, fermentacja, obróbka hydrobarotermiczna, strawność, przewód pokarmowy, żywienie, jakość jaj

9. SUMMARY

The aim of the study was to determine the effects of 20% raw rapeseed cake (RRC) and hydrobarothermally treated (HRC) and fermented (FRC) in diets for laying hens, on production performance, selected egg quality indicators, fatty acid profile and antioxidant status of egg yolks, as well as blood biochemical parameters and intestinal function in birds. A total of 304 Hy-Line Brown laying hens at 36 weeks of age were distributed in a completely randomized arrangement to four study groups with 38 replicates per group and 2 hens per cage. The birds had free access to feed and water throughout the experiment. During the experiment, the birds were fed isobrotein and isocaloric diets that varied in protein source. In the control group C, the main source of protein in the diet was post-extraction soybean meal (PSS), while the experimental groups were fed diets containing 20% RRC, HRC or FRC. Hydrobaric treatment and fermentation reduced the content of glucosinolates (GLS), fermentation further reduced the concentration of phytic phosphorus (FF) in rapeseed cake. Compared to the RRC group, layers from the HRC and FRC groups had higher laying performance, comparable to the C group. Regardless of the form, RRC added to diets of laying hens adversely affected eggshell quality, while protein quality was highest in the FRC group. Compared to group C, diets containing RRC, HRC and HRC led to a significant decrease in saturated fatty acids, an increase in the proportion of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in the total fatty acid pool in egg yolks, and a decrease in the PUFA n-6/n-3 ratio. The inclusion of RRC, HRC and FRC in the diets of laying hens decreased superoxide dismutase (SOD) activity in egg yolks, compared to group C. Eggs from the FRC group had the highest catalase (CAT) activity and the lowest lipid peroxides (LOOH) concentration, compared to the other groups. The addition of RRC did not adversely affect the sensory quality of the eggs, and those obtained from the FRC group received the highest overall score. Both HRC and FRC increased serum total protein (TP) and globulin (GLB) concentrations, compared to the C group. Hens in the HRC group had the desirable lowest blood triacylglycerol (TAG) levels and aspartate aminotransferase (AST) activity. Hens in the FRC group had the lowest alkaline phosphatase (ALP) activity and the highest concentrations of phosphorus (P) and triiodothyronine (T3). Regardless of form, RRC improved ether extract digestibility (EE) and reduced dry matter digestibility (SM) and calcium retention (Ca). Compared to the C group, RRC, HRC and FRC reduced the mass of cecal contents and increased the activity of bacterial α-galactosidase and ß-galactosidase. HRC also increased the concentration of ammonia in the cecum and decreased the activity of β-xylosidase. The activity of α-glucosidase and α-arabinopyranosidase was the highest, and the

activity of bacterial β-glucuronidase was the lowest in the cecum of hens in the FRC group. The concentration of acetic acid, propionic acid, and short-chain fatty acids (SCFAs) in the cecum was highest in the birds of the RRC group, and lowest in the HRC group. It can be concluded that the inclusion of 20% RRC, HRC and FRC in the diets of laying hens does not negatively affect the sensory quality of eggs and has a beneficial effect on the fatty acid profile and antioxidant potential of yolks. In conclusion, hydrobaric treatment and, above all, fermentation improves the nutritional value of rapeseed feed by reducing the concentration of antinutritional compounds in it. Consequently, both hydrobarothermally treated and fermented rapeseed cake can be valuable components of feed mixtures for laying hens, but fermented rapeseed cake seems to be the most useful, as it achieves the best laying performance and has the most beneficial effect on the health status and function of the digestive tract of the birds.

Keywords: laying hen, rapeseed cake, fermentation, hydrobarothermal treatment, digestibility, gastrointestinal tract, nutrition, egg quality

Tabela 1. Skład i wartość odżywcza diet eksperymentalnych (%)

Składnik	Diety			
	C	RRC	HRC	FRC
Pszenica	49,756	36,972	36,972	36,972
Kukurydza	20,000	20,000	20,000	20,000
Poekstrakcyjna śruta sojowa	17,273	7,700	7,700	7,700
Makuch rzepakowy	-	20	-	-
Makuch rzepakowy poddany obróbce hydrobarotermicznej	-	-	20	-
Makuch rzepakowy fermentowany	-	-	-	20
Olej sojowy	1,144	3,842	3,842	3,842
Chlorek sodu	0,370	0,372	0,372	0,372
Wapń	9,537	9,319	9,319	9,319
Fosforan jednowapniowy	1,153	1,123	1,123	1,123
L-lizyna HCL	0,096	0,079	0,079	0,079
DL-metionina	0,172	0,092	0,092	0,092
Premiks witaminowo-mineralny[1]	0,500	0,500	0,500	0,500
Wartość pokarmowa, %				
Energia metaboliczna, kcal/kg	2700	2700	2700	2700
Białko ogólne	17,0	16,9	17,1	17,2
Tłuszcz Surowy	3,1	7,1	7,0	7,1
Włókno surowe	2,358	4,765	4,765	4,765
Lizyna	0,790	0,790	0,790	0,790
Arginina	0,961	0,936	0,936	0,936
Metionina	0,412	0,371	0,371	0,371
Metionina + Cysteina	0,720	0,720	0,720	0,720
Treonina	0,555	0,601	0,601	0,601
Tryptofan	0,189	0,189	0,189	0,189
Wapń	3,900	3,900	3,900	3,900
Fosfor przyswajalny	0,400	0,400	0,400	0,400

[1] Dostarczono następujące składniki na kilogram paszy: 8 000 j.m. wit. A, 2 500 j.m. wit. D_3, 20 mg wit. E, 1,0 mg wit. K_3, 1,5 mg wit. B_1, 4 mg wit. B_2, 1,0 mg wit. B_6, 0,02 mg wit. B_{12}, 0,1 mg biotyny, 6,0 mg kwasu pantotenowego, 65,0 mg Mn z tlenku manganu, 52 mg cynku z tlenku cynku, 45,0 mg I z dijodowodorku etylenodiaminy, 0,15 mg Se z seleninu sodu, 6 mg Cu.

[2] Obliczono według zaleceń zawartych w Normach Żywienia Drobiu (Smulikowska i Rutkowski, 2018).

Tabela 2. Wartość pokarmowa produktów rzepakowych i obecność czynników antyżywieniowych (%, sucha masa)

	RRC	HRC	FRC
Sucha masa	88,87	88,45	94,57
Białko surowe	37,74	37,02	39,44
Tłuszcz surowy	10,80	9,91	9,29
Energia brutto, MJ/kg	21,19	21,41	21,86
Fosfor fitynowy	1,607	1,684	0,833
Polisacharydy nieskrobiowe	20,48	20,11	21,63
Arabinoza	4,41	4,43	4,38
Ksyloza	1,51	1,55	1,52
Mannoza	0,30	0,31	0,27
Galaktoza	1,50	1,53	1,50
Glukoza	5,95	5,96	7,73
Kwasy uronowe	6,81	6,33	6,23
Glukozynolany, μmol/g	15,35	13,32	0,92
Glukonapina	3,07	2,97	0,27
Glukobrassykapina	0,79	0,64	0,16
Progoitryna	8,87	8,51	0,43
Glukobrassycyna	0,25	0,20	0,03
Hydroksyglukobrassycyna	2,10	0,86	0,02
Neoglukobrassycyna	0,27	0,12	n.w.[2]

[1] RRC - surowy makuch rzepakowy, HRC - makuch rzepakowy poddany obróbce hydrobarotermicznej, FRC - fermentowany makuch rzepakowy;

[2] Nie wykryto.

Tabela 3. Wydajność kur nieśnych żywionych surowym (RRC), poddanym obróbce hydrobarotermicznej (HRC) i fermentowanym makuchem rzepakowym (FRC)

	Diety				SEM	Wartość P
	C	RRC	HRC	FRC		
Początkowa masa ciała, kg	2,079	2,040	2,040	2,052	0,014	0,763
Końcowa masa ciała, kg	1,997^{b}	2,019^{ab}	2,096^{a}	2,054^{ab}	0,013	0,037
Procent nieśności, %	96,2^{a}	92,9^{b}	94,5^{ab}	95,4^{a}	0,285	0,001
Masa jaja, g	61,9	61,5	60,7	61,3	0,243	0,325
Masa zniesionych jaj, kg/kurę	4,95^{a}	4,76^{b}	4,81^{ab}	4,84^{ab}	0,022	0,014
Średnie dzienne spożycie paszy, g/kurę/dzień	112,6	113,2	112,2	113,3	0,252	0,374
Współczynnik wykorzystania paszy, kg paszy/kg jaj	1,899^{b}	1,980^{a}	1,959^{ab}	1,952^{ab}	0,009	0,026

^{a,b} średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $P<0,05$.

Tabela 4. Wpływ surowego (RRC), poddanego obróbce hydrobarotermicznej (HRC) i fermentowanego makuchu rzepakowego (FRC) na właściwości fizykochemiczne jaj

	Diety				SEM	Wartość P
	C	RRC	HRC	FRC		
Wytrzymałość skorupy, kg/cm^2	4,05^{a}	3,78^{ab}	3,30^{b}	3,70^{ab}	0,086	0,018
Grubość skorupy, mm	0,314^{a}	0,306^{ab}	0,288^{bc}	0,279^{c}	0,003	0,001
Barwa żółtka, pkt	2,42^{b}	2,92^{ab}	3,50^{a}	3,17^{ab}	0,115	0,005
Wysokość białka, mm	7,39^{ab}	7,29^{bc}	6,43^{c}	8,22^{a}	0,146	0,001
Jednostki Haugha	84,0^{a}	83,7^{ab}	77,6^{b}	89,4^{a}	0,985	0,001
Udział żółtka w jaju, %	25,8	25,9	25,3	25,4	0,758	0,229
Udział białka w jaju, %	64,9	65,4	65,8	65,4	0,230	0,618
Udział skorupy w jaju, %	9,30	9,11	8,90	8,75	0,085	0,109

^{a,b,c} średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy P<0,05.

Tabela 5. Wpływ surowego (RRC), poddanego obróbce hydrobarotermicznej (HRC) i fermentowanego makuchu rzepakowego (FRC) na skład kwasów tłuszczowych (% całkowitej zawartości kwasów tłuszczowych) i zawartość cholesterolu w lipidach żółtka (%)

	Diety				SEM	Wartość P
	C	RRC	HRC	FRC		
C14:0	0,290[a]	0,230[b]	0,233[b]	0,218[b]	0,006	0,001
C14:1	0,060[a]	0,024[b]	0,022[b]	0,021[b]	0,003	0,001
C15:0	0,063[ab]	0,061[ab]	0,057[b]	0,069[a]	0,002	0,040
C16:0	25,4[a]	21,9[b]	21,5[b]	20,8[b]	0,340	0,001
C16:1	3,17[a]	1,73[b]	1,75[b]	1,60[b]	0,125	0,001
C17:0	0,167[c]	0,211[b]	0,216[b]	0,245[a]	0,005	0,001
C17:1	0,129	0,136	0,128	0,145	0,002	0,468
C18:0	8,13	8,54	8,05	8,45	0,086	0,120
C18:1	42,1	41,4	41,8	41,7	0,208	0,706
C18:2 (n-6)	16,2[b]	20,5[a]	21,2[a]	21,3[a]	0,451	0,001
C18:3 (n-6)	0,221[b]	0,252[a]	0,232[ab]	0,255[a]	0,004	0,006
C18:3 (n-3)	0,782[b]	1,366[a]	1,488[a]	1,465[a]	0,060	0,001
C20:1	0,223[a]	0,190[b]	0,189[b]	0,210[ab]	0,004	0,006
C20:2 (n-6)	0,134	0,157	0,167	0,168	0,005	0,096
C20:3 (n-6)	0,141	0,145	0,142	0,142	0,003	0,945
C20:4 (n-6)	1,79[a]	1,81[a]	1,63[b]	1,83[a]	0,022	0,002
C22:6 (n-3)	0,912[c]	1,326[ab]	1,166[b]	1,410[a]	0,038	0,001
SFAs[1]	34,1[a]	30,9[b]	30,0[b]	29,7[b]	0,435	0,001
MUFAs[2]	45,7[a]	43,5[b]	43,9[ab]	43,7[b]	0,271	0,010
PUFAs[3]	20,2[b]	25,6[a]	26,0[a]	26,6[a]	0,539	0,001
n-3 PUFAs	1,69[b]	2,69[a]	2,65[a]	2,87[a]	0,091	0,001
n-6 PUFAs	18,5[b]	22,9[a]	23,4[a]	23,7[a]	0,455	0,001
n-6/n-3 PUFA ratio	11,52[a]	8,52[b]	8,81[b]	8,26[b]	0,267	0,001
Hipercholesterolemiczne kwasy tłuszczowe	26,0[a]	22,4[b]	22,0[b]	21,3[b]	0,340	0,001
Hipocholesterolemiczne kwasy tłuszczowe	74,0[b]	77,6[a]	78,0[a]	78,7[a]	0,340	0,001
Cholesterol	21,0[a]	21,4[a]	17,0[b]	21,8[a]	0,522	0,001

[a,b] średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy P<0,05; SFA - nasycone kwasy tłuszczowe, MUFA - jednonienasycone kwasy tłuszczowe, PUFA - wielonienasycone kwasy tłuszczowe.

Tabela 6. Parametry redoks żółtek jaj pozyskanych od kur nieśnych żywionych dietą kontrolną (C) oraz dietami zawierającymi surowy (RRC), poddany obróbce hydrobarotermicznej (HRC) lub fermentowany makuch rzepakowy (FRC)

	Diety				SEM	Wartość P
	C	RRC	HRC	FRC		
SOD, U/g	123,7[a]	99,8[b]	98,5[b]	104,7[b]	2,252	0,001
CAT, U/g	29,7[b]	32,9[b]	37,0[ab]	42,3[a]	1,295	0,002
MDA, µmol/kg	7,38	7,67	7,61	7,66	0,148	0,900
LOOH, µmol/l	5,14[b]	6,51[a]	5,61[ab]	5,12[b]	0,151	0,001
GSH+GSSG, µmol/kg	4,01	4,06	4,05	4,59	0,142	0,443

[a,b] średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy P<0,05; SOD - dysmutaza ponadtlenkowa; CAT - katalaza; MDA - dialdehyd malonowy, LOOH - nadtlenki lipidów, GSH+GSSG - glutation całkowity.

Tabela 7. Średnie wartości cech jakości sensorycznej jaj

	Diety				SEM	Wartość P
	C	RRC	HRC	FRC		
Wygląd ogólny	3,65[b]	3,80[b]	3,70[b]	4,25[a]	0,065	0,002
Aromat	3,75[b]	3,75[b]	3,75[b]	4,15[a]	0,057	0,020
Tekstura białka	3,80[ab]	3,80[ab]	3,65[b]	4,25[a]	0,069	0,008
Tekstura żółtka	3,80[b]	3,70[b]	3,80[b]	4,30[a]	0,067	0,004
Smak	3,60[b]	3,65[b]	3,65[b]	4,35[a]	0,071	0,001

[a,b] średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy P<0,05.

Tabela 8. Parametry biochemiczne krwi kur niosek[1]

	Diety				SEM	Wartość P
	C	RRC	HRC	FRC		
TP, g/L	41,8^{b}	51,8^{ab}	61,2^{a}	61,0^{a}	1,973	0,001
ALB, g/L	30,5^{c}	34,6^{ab}	30,9^{bc}	34,8^{a}	0,585	0,004
GLB, g/L	11,3^{c}	17,3^{bc}	30,3^{a}	26,1^{ab}	1,942	0,001
TAG, mmol/L	10,15^{a}	9,48^{ab}	8,71^{b}	10,22^{a}	0,216	0,038
TC, mmol/L	3,59	4,20	3,73	4,25	0,148	0,295
AST, U/L	227^{a}	165^{b}	125^{c}	166^{b}	7,700	0,001
ALT, U/L	17,8	15,8	16,9	16,3	0,391	0,324
BIL, umol/L	61,2^{b}	73,1^{a}	72,2^{ab}	66,8^{ab}	1,622	0,026
ALP, U/L	257^{a}	255^{a}	198^{ab}	143^{b}	11,47	0,001
LDH, U/L	2228	2409	2338	2692	65,1	0,066
CREAT, umol/L	40,3^{a}	39,3^{a}	26,3^{b}	20,7^{b}	2,033	0,001
UREA, mmol/L	3,08	2,94	3,08	3,03	0,110	0,971
UA, mmol/L	0,273	0,230	0,321	0,251	0,012	0,054
GGT, U/L	22,8	22,8	22,7	22,9	0,396	1,000
T4, ng/mL	75,2	77,2	74,4	80,5	1,222	0,300
T3, ng/mL	0,437^{b}	0,491^{ab}	0,460^{b}	0,576^{a}	0,014	0,001
Ca, mmol/L	12,63^{a}	8,96^{b}	10,86^{ab}	11,44^{a}	0,343	0,001
P, mmol/L	1,51^{b}	1,50^{b}	1,49^{b}	2,00^{a}	0,064	0,005
Mg, mmol/L	2,59	2,64	2,87	3,25	0,102	0,081
Zn, umol/L	121	115	134	126	3,269	0,218
Cu, umol/L	23,0	29,9	23,9	26,4	1,380	0,303
Fe, umol/L	74,6^{a}	68,0^{ab}	53,9^{b}	62,7^{ab}	2,644	0,034

[1]dane reprezentujące średnie wartości 9 ptaków z grupy;

^{a,b} średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $P<0,05$; TP - białko całkowite; ALB - albumina; GLB - globulina; TAG - triacyloglicerole; TC - cholesterol całkowity; AST - aminotransferaza asparaginianowa; ALT - aminotransferaza alaninowa; BIL - bilirubina; ALP - fosfataza alkaliczna; LDH - dehydrogenaza mleczanowa; CREAT - kreatynina; UREA - mocznik; UA - kwas moczowy; GGT - transpeptydaza gamma-glutamylowa; T3 - wolna trijodotyronina; T4 - wolna tyroksyna.

Tabela 9. Wartość energii metabolicznej diet, pozorne współczynniki strawności składników odżywczych oraz retencja Ca i P u kur nieśnych żywionych dietami doświadczalnymi[1]

	Diety				SEM	Wartość P
	C	RRC	HRC	FRC		
Sucha masa	90,13[a]	87,97[b]	87,84[b]	87,50[b]	0,292	0,002
Tłuszcz surowy	80,76[b]	86,56[a]	87,21[a]	86,63[a]	0,685	0,001
Retencja N	35,05	37,13	36,39	35,74	0,606	0,675
Retencja Ca	67,79[a]	48,33[b]	53,35[b]	48,64[b]	1,671	0,001
Retencja P	30,52[a]	27,34[a]	12,59[b]	23,20[a]	1,699	0,027
AMEn (MJ/kg)	11,21	11,21	10,85	10,76	0,075	0,055

[1]dane przedstawiają średnie z 8 powtórzeń;

[a,b] średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy P<0,05.

Tabela 10. Właściwości fizykochemiczne treści pokarmowej jelita krętego i ślepego u kur nieśnych [1]

	Diety				SEM	Wartość P
	C	RRC	HRC	FRC		
Wskaźniki jelita cienkiego						
Masa tkanki łącznie z treścią pokarmową, g/kg	33,0	34,6	32,3	33,0	0,728	0,729
SM treści, %	22,9	21,8	23,5	21,4	0,358	0,116
Lepkość treści, mPas	2,66	2,32	2,39	2,45	0,064	0,279
pH treści	6,00	5,94	5,96	6,07	0,026	0,308
Wskaźniki jelita ślepego						
Masa tkanki, g/kg	3,19^{a}	2,88^{ab}	2,67^{b}	2,86^{ab}	0,063	0,026
Masa treści, g/kg	3,63^{a}	2,44^{b}	2,36^{b}	2,77^{b}	0,131	0,001
pH treści	5,85^{a}	5,50^{b}	5,95^{a}	6,02^{a}	0,048	0,001
Amoniak, mg/g	0,344^{b}	0,410^{b}	0,522^{a}	0,441^{ab}	0,017	0,001
SM treści, %	23,7^{b}	25,5^{ab}	27,1^{a}	27,5^{a}	0,368	0,001

[1] dane reprezentujące średnie wartości 9 ptaków na grupę doświadczalną;

^{a,b} średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $P<0,05$.

Tabela 11. Aktywność enzymów mikrobiologicznych i stężenie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) w jelicie ślepym kur nieśnych[1]

	Diety				SEM	Wartość P
	C	RRC	HRC	FRC		
Aktywność enzymatyczna, mmol/h/g						
α-glukozydaza	20,8^{b}	26,7^{b}	27,2^{b}	87,8^{a}	4,741	0,001
β-glukozydaza	10,05	10,35	9,27	11,13	0,393	0,424
α-galaktozydaza	38,9^{c}	63,2^{ab}	84,3^{a}	62,2^{b}	3,812	0,001
β-galaktozydaza	52,4^{b}	95,1^{a}	109,4^{a}	79,7^{ab}	5,308	0,001
β-glukuronidaza	18,7^{ab}	23,3^{a}	17,6^{ab}	13,2^{b}	1,040	0,004
α-arabinopiranozydaza	4,24^{b}	6,97^{b}	6,35^{b}	13,97^{a}	0,707	0,001
β-ksylozydaza	16,5^{a}	16,0^{ab}	11,0^{c}	11,3^{bc}	0,727	0,003
Stężenia SCFA, µmol/g						
Kwas octowy (C2)	37,7^{ab}	44,9^{a}	29,8^{c}	36,5^{bc}	1,372	0,001
Kwas propionowy (C3)	19,2^{ab}	21,7^{a}	14,3^{b}	17,2^{ab}	0,778	0,003
Kwas izomasłowy (C4i)	0,665	0,651	0,707	0,763	0,035	0,686
Kwas masłowy (C4)	10,58^{a}	11,00^{a}	7,18^{b}	8,61^{ab}	0,489	0,013
Kwas izowalerianowy (C5i)	0,974	0,807	0,988	1,063	0,053	0,386
Kwas walerianowy (C5)	1,04	1,31	1,20	1,28	0,045	0,118
SCFA gnilne	2,65	2,77	2,89	3,12	0,102	0,440
SCFA ogółem	70,1^{ab}	80,3^{a}	54,1^{c}	65,4^{bc}	2,424	0,001
Profil SCFA (% wszystkich SCFA)						
C2	53,8	56,1	55,0	55,9	0,563	0,476
C_3	27,3	26,7	26,3	26,3	0,356	0,722
C_4	15,0	13,5	13,3	13,0	0,404	0,307

[1] dane reprezentujące średnie wartości 9 ptaków na grupę doświadczalną;

[a,b] Średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy P<0,05; SCFA - krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe

animals

MDPI

Article

Performance and Egg Quality of Laying Hens Fed Diets Containing Raw, Hydrobarothermally-Treated and Fermented Rapeseed Cake

Magdalena Kopacz [1], Aleksandra Alicja Drażbo [1,*], Katarzyna Śmiecińska [2] and Katarzyna Ognik [3]

[1] Department of Poultry Science and Apiculture, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn, Poland; magdalena.kopacz@uwm.edu.pl
[2] Department of Commodity Science and Animal Raw Material Processing, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn, Poland; katarzyna.smiecinska@uwm.edu.pl
[3] Department of Biochemistry and Toxicology, Faculty of Animal Sciences and Bioeconomy, University of Life Sciences in Lublin, Akademicka 13, 20-950 Lublin, Poland; katarzyna.ognik@up.lublin.pl
* Correspondence: aleksandra.drazbo@uwm.edu.pl

Simple Summary: Rapeseed cake (RC) has recently gained increasing interest as a dietary protein source alternative to soybean meal (SBM). However, its wider use in poultry diets (including laying hen diets) is limited due to the high concentrations of antinutritional compounds. Technological processes such as thermal treatment and fermentation may improve the nutritional value of RC by reducing the content of non-starch polysaccharides (NSPs), glucosinolates (GLS) and phytate phosphorus (PP). The present study revealed that the inclusion of 20% RC in layer diets improves the fatty acid (FA) profile of egg yolks while maintaining a desirable redox status. Hydrobarothermally-treated RC (HRC) and fermented RC (FRC) exerted a greater beneficial influence on the laying performance of hens than raw RC (RRC). FCR appears to be the optimal substitute for SBM because it contributed to the highest albumen quality and the highest sensory quality of eggs.

Abstract: The present study was conducted to investigate how raw rapeseed cake (RRC), hydrobaro thermally-treated rapeseed cake (HRC) and fermented rapeseed cake (FRC) fed to laying hens over a period of 12 weeks affected their performance, and the quality, fatty acid (FA) profile and oxidative stability of eggs. A total of 304 Hy-Line Brown laying hens at 36 weeks of age were distributed in a completely randomized design to four treatment groups with 38 replicates per treatment and two hens per replicate. The birds had ad libitum access to feed and water throughout the study. During the experiment, the birds were fed isonitrogenous and isocaloric diets in mash form, with various protein sources. In the control group (C), soybean meal (SBM) was the main source of dietary protein, whereas the experimental groups were fed diets containing 20% of RRC, HRC or FRC. Hydrobarothermal treatment and fermentation decreased the glucosinolate (GLS) content of RC, and fermentation reduced the concentration of phytate phosphorus (PP). In comparison with the RRC group, layers from the HRC and FRC groups were characterized by higher laying performance, comparable with that in group C. Irrespective of its physical form, RC added to layer diets adversely affected eggshell quality in all experimental groups, whereas albumen quality was highest in the FRC group. In comparison with group C, diets containing RRC, HRC and HRC led to a significant decrease in the content of saturated fatty acids (SFAs), an increase in the proportion of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in the total FA pool in egg yolks, and a decrease in the n-6/n-3 PUFA ratio. The inclusion of RRC, HRC and FRC in layer diets decreased the activity of superoxide dismutase (SOD) in egg yolks, relative to group C. Group FCR eggs were characterized by the highest activity of catalase (CAT) and the lowest lipid peroxides LOOH concentration, compared with the remaining groups. The addition of RC to layer diets did not compromise the sensory quality of eggs, and eggs produced in group FRC received the highest overall score. It can be concluded that the inclusion of 20% RRC, HRC and FRC in layer diets does not compromise the sensory quality of eggs and has a beneficial influence on the FA profile and antioxidant potential of egg yolks. The use of

check for updates

Citation: Kopacz, M.; Drażbo, A.A.; Śmiecińska, K.; Ognik, K. Performance and Egg Quality of Laying Hens Fed Diets Containing Raw, Hydrobarothermally-Treated and Fermented Rapeseed Cake. *Animals* **2021**, *11*, 3083. https://doi.org/10.3390/ani11113083

Academic Editors: Natalie Morgan and Youssef A. Attia

Received: 22 September 2021
Accepted: 27 October 2021
Published: 28 October 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

FRC is recommended because it contributes to the highest laying performance, superior albumen quality and the highest sensory quality of eggs, relative to RRC and HRC.

Keywords: laying hen; nutrition; egg quality; rapeseed cake; fermentation; hydrobarothermal treatment

1. Introduction

Soybean meal (SBM) is presently the main source of protein in animal diets, including laying hen diets. However, the global demand for feed protein is met by SBM imports from a limited number of countries. Due to the high prices and variable supply of SBM, as well as concerns over genetically modified soybeans, alternative domestic sources of vegetable protein, such as rapeseed meal (RSM) or rapeseed cake (RC), are being sought.

According to Food and Agriculture Organization (FAO) [1], in 2019/2020, global oilseed production reached 584.3 million tons, including 69.2 million tons of rapeseed. Rapeseed is widely used in the production of both foodstuffs and feedstuffs. Rapeseed oil by-products are utilized in the feed industry. These by-products include RC which can be a valuable component in layer diets [2]. The production technology of RC is less expensive and more environmentally friendly than organic solvent extraction [3]. RC is also a richer source of oil and metabolizable energy for poultry than RSM. Rapeseed oil is abundant in omega-3 (approx. 8–9%) and omega-6 (approx. 20–24%) polyunsaturated fatty acids (PUFAs), and it can increase the content of these fatty acids in the egg yolk [4,5]. Rapeseed oil also contains bioactive compounds, including vitamin E, phenolic compounds, flavonoids, phytosterols and other antioxidants that deliver health benefits for humans and animals [6].

The high content of non-starch polysaccharides (NSPs), glucosinolates (GLS) and phytic acid (PA) limits the use of RC in layer diets. Indigestible NSPs compromise the utilization of nutrients, in particular protein, energy and phosphorus [7]. Phytic acid is poorly available to poultry, therefore poultry diets have to be supplemented with phytase enzymes or inorganic phosphorus [8,9]. Glucosinolates, the major antinutritional compounds in rapeseed, increase mortality and decrease egg production and egg weight [10]. Some GLS degradation products contribute to the production of fish-tainted eggs whose yolks contain high levels of trimethylamine (TMA), a product of bacterial fermentation of choline in the lower gut [11]. Goitrin, an antinutritional factor (ANF) formed by the action of myrosinase on GLS, inhibits the oxidation of TMA to odorless compounds, which produces a fishy taint in eggs laid by genetically susceptible birds, specifically brown layers [12,13]. In the literature, there is no consensus on the optimal proportions of rapeseed products in layer diets. According to some authors, the rapeseed content of layer diets should not exceed 10%, whereas in other studies, diets containing 20% of rapeseed had no negative effect on laying performance or egg quality [14–18].

The nutritional value of rapeseed can be improved by reducing the content of some ANFs, which can be accomplished through physical, chemical and biological treatment or by modifying crop breeding practices [19–21]. Numerous studies have demonstrated that thermal processing effectively deactivates myrosinase and decreases GLS levels in rapeseed feeds, thus improving their nutritional value for monogastric animals, including poultry [3,22,23]. According to Zentek and Goodarzii-Boorojeni [24], hydrothermal processes can reduce the content of many ANFs in poultry feed components, but their effectiveness is determined by the type and intensity of the applied treatment. Lichovníková et al. [25] and Sasyte et al. [26] observed that extruded rapeseed can be incorporated into layer diets without compromising egg production or egg quality, but little is known about other thermal processing methods for improving the nutritional value of layer diets.

Fermentation treatments have also been long used to improve the nutritional value of feed components, including rapeseed, in animal diets [27–30]. According to Gao et al. [31],

fermentation can reduce the levels of aliphatic compounds (by 57.7%), indole GLS (by 97.3%), oligosaccharides (by 73%), lignin and NDF (by 25%), and PA (by 86%) in RSM, depending on processing conditions and inoculum type. However, the efficacy of fermented rapeseed feeds in laying hen nutrition has not been investigated to date. In our previous experiment performed on female turkeys, the dietary inclusion of fermented RC (FRC) at 15% did not compromise the growth performance of birds and had a greater beneficial influence on breast muscle quality than SBM used as the sole protein source [32]. Engberg et al. [33] demonstrated that fermented feeds fed to laying hens positively affected egg weight and eggshell quality.

In light of previous findings, the research hypothesis postulates that the partial replacement of SBM with RC in laying hen diets can improve productivity, and the antioxidant status and quality of eggs. Therefore, the aim of this study was to determine the effect of raw RC (RRC), hydrobarothermally-treated RC (HRC) and FRC added at 20% to layer diets on laying performance, egg traits, and the FA profile and antioxidant status of egg yolks.

2. Materials and Methods

The trial with laying hens was conducted at the Animal Research Laboratory (Department of Poultry Science and Apiculture, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland) in accordance with EU Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes [34].

2.1. Preparation of Hydrobarothermally-Treated Rapeseed Cake (HRC) and Fermented Rapeseed Cake (FRC)

Locally produced RRC was purchased from "Agrolok" *Agrolok* in Golub Dobrzyn, Poland. Purified RRC was ground in a roller mill to pass through a 3 mm sieve, and then conditioned at a temperature of 90–95 °C and humidity of around 18%. Next RRC was processed in a hydrothermal reactor in the presence of steam at a temperature of 95–100 °C for 15–20 min. The raw material was expanded at a temperature of 105–110 °C under pressure of 40–60 atm, dried and cooled to the optimal storage temperature and humidity.

Raw RC was fermented as described by Drażbo et al. [35]. RRC was ground and thoroughly mixed with water in a ratio of 1:2. The fermentation process was carried out with the use of commercial 6-phytase enzyme preparation expressed by Pichia pastoris, which was added to RRC in a weight ratio of 1:1000, and thoroughly mixed. Solid-state fermentation was conducted for 24 h at a temperature of 30 °C under anaerobic conditions. Then the enzyme was deactivated at a temperature of 70 °C for 15 min, and the fermented biomass was dried at a temperature of 55 °C. The fermentation process was carried out under patent pending procedure No. 422849.

Rapeseed samples were analyzed in duplicate for the content of dry matter (DM), crude protein (CP), ether extract (EE), crude fat (CF) and crude ash (CA) according to Association of Official Agricultural Chemists AOAC [36] methods 934.01, 976.05, 920.39, 978.10, 942.05 and 984.27, respectively. Gross energy (GE) was determined with an adiabatic bomb calorimeter (KL 12 Mn, Precyzja-Bit PPHU, Bydgoszcz, Poland) standardized with benzoic acid. NSPs were determined by gas−liquid chromatography (constituent neutral sugars) using an SP-2340 column and a Varian CP3380 gas chromatograph (Varian Inc., Palo Alto, CA, USA) and by colorimetry (uronic acids) using a Biochrom Ultrospec 50 (Biochrom Ltd., Cambridge, UK), according to the procedure described by Englyst and Cummings [37,38] with modifications [39]. Uronic acids were determined as described by Scott [40]. Glucosinolates were determined by gas−liquid chromatography as described by Slominski and Campbell [41].

2.2. Birds and Housing

The experimental materials comprised 304 Hy-Line Brown laying hens aged 36 weeks, obtained from a local commercial flock. Before the experiment, all birds were weighed individually and were placed in three-tier battery cages (40 × 35 × 60) cm, with a floor slope of 12°) with two hens per cage. The birds were distributed in a completely randomized

design to four treatment groups with 38 replicates per treatment and two hens per replicate. The replicates were equally distributed among three cage levels to minimize the cage level effect. Room temperature was maintained at 20 to 22 °C, and the light cycle was set at 16 h of continuous light and 8 h of darkness. The birds had ad libitum access to feed and water throughout the study. The trial started when the hens were 36 weeks old, and lasted for 12 weeks (until 48 weeks of age).

During the experiment, the birds were fed isonitrogenous and isocaloric diets in mash form, with various protein sources. In the control group (C), SBM was the main source of dietary protein, whereas the experimental groups were fed diets containing 20% of RRC, HRC or FRC. All diets were formulated to meet the nutrient requirements of laying hens [42]. The composition of control and experimental diets is presented in Table 1.

Table 1. Ingredient composition and nutritional value of experimental diets (%).

Ingredient	Diet			
	C	RRC	HRC	FRC
Wheat	49.756	36.972	36.972	36.972
Maize	20.000	20.000	20.000	20.000
Soybean meal	17.273	7.700	7.700	7.700
Rapeseed cake	-	20	-	-
Hydrobarothermally-treated rapeseed cake	-	-	20	-
Fermented rapeseed cake	-	-	-	20
Soybean oil	1.144	3.842	3.842	3.842
Sodium chloride	0.370	0.372	0.372	0.372
Limestone	9.537	9.319	9.319	9.319
Monocalcium phosphate	1.153	1.123	1.123	1.123
L-Lysine HCL [1]	0.096	0.079	0.079	0.079
DL-Methionine	0.172	0.092	0.092	0.092
Vitamin-mineral premix [2]	0.500	0.500	0.500	0.500
Analyzed nutrients				
Crude protein	17.0	16.9	17.1	17.2
Crude fat	3.1	7.1	7.0	7.1
Calculated nutritional value [3]				
AME, kcal/kg	2700	2700	2700	2700
Crude fiber	2.358	4.765	4.765	4.765
Lysine	0.790	0.790	0.790	0.790
Arginine	0.961	0.936	0.936	0.936
Methionine	0.412	0.371	0.371	0.371
Methionine + Cysteine	0.720	0.720	0.720	0.720
Threonine	0.555	0.601	0.601	0.601
Tryptophan	0.189	0.189	0.189	0.189
Calcium	3.900	3.900	3.900	3.900
Available phosphorus	0.400	0.400	0.400	0.400

[1] Lysine hydrochloride,[2] Supplied the following per kilogram of feed: 8000 IU vit A, 2500 IU vit D3, 20 mg vit E, 1.0 mg vit K_3, 1.5 mg vit B_1, 4 mg vit B_2, 1.0 mg vit B_6, 0.02 mg vit B_{12}, 0.1 mg biotin, 6.0 mg pantothenic acid, 65.0 mg Mn from manganese oxide, 52 mg zinc from zinc oxide, 45.0 mg I from ethylene diamine dihydroiodide, 0.15 mg Se from sodium selenite, 6 mg Cu. [3] Calculated according to Polish Feedstuff Analysis Tables [42].

2.3. Laying Performance

The body weights (BW) of hens were determined at the beginning (36 weeks of age) and at the end (48 weeks of age) of the experiment. Daily records of egg production were kept, and the egg laying rate was expressed as an average hen-day production. Eggs were collected daily, and egg production was expressed based on the number of days (% working days) at 4-week intervals. Individual egg weight was recorded by individual egg weighing per cage every 2 weeks, and it was used to calculate average egg weight. Total egg weight was calculated by multiplying average egg weight by egg production. Feed

intake was controlled every 4 weeks, at 40, 44 and 48 weeks of age. Average daily feed intake (ADFI) per bird was calculated based on total feed intake and the number of days in the analyzed period. The feed conversion ratio—FCR (kg feed/kg eggs laid) was estimated based on egg weight and feed intake.

2.4. Egg Quality

At the end of the experiment (at 48 weeks of hens' age), 12 eggs from each group were picked randomly to determine their physicochemical properties. All quality analyses were completed within 24 h of egg collection. The eggs were weighed individually and were broken on the EQM plate measurement stand (Egg Quality Microprocessor, Technical Services & Supplies Ltd., Dunnington, York, UK) to determine albumen height. The average of two measurements of albumen height and egg weight were used to compute the Haugh unit score (HU) [43]. Yolk color intensity was evaluated and scored according to the yolk color fan (DSM, Heerlen, Netherlands) (1, light yellow; 15, orange). Then the yolk was separated from the albumen using a teflon spoon (Tefal, Rumilly, France). The yolk was rolled on a blotting paper towel. Albumen weight was calculated by subtracting the weights of yolk and eggshell from whole egg weight. To determine eggshell weight, eggshells were cleaned of any adhering albumen and membranes, and they were dried at room temperature. The proportions of the yolk, albumen and eggshell were expressed as a percentage of whole egg weight. Eggshell thickness was measured at three different locations (middle, broad and narrow ends) with the use of a digital micrometer gauge (Mitutoyo QuantuMike, Poland Ltd., Wrocław, Poland), and it was expressed as the mean value. Eggshell breaking strength was measured using an egg force reader (Orka Food Technology, Herzliya, Israel).

2.5. Cholesterol Concentration and Fatty Acid Composition of the Egg Yolk

The concentration of cholesterol and FA profile were determined in fat extracted from the yolk, according to the method proposed by Folch et al. [44]. Cholesterol was separated from fat after saponification with potassium hyroxide KOH and extraction with ethyl ether, by the modified method of the International Dairy Federation [45]. The samples were analyzed on a PU4600 chromatograph (Unicam, Cambridge, UK) with a flame ionization detector (FID), under the following conditions: glass column length—1 m, inner diameter—4 mm, film thickness—0.25 m, temperature: detector—300 °C, injector—290 °C, column—260 °C, carrier gas—argon, flow rate—50 cm^3/min, and internal standard—dotriacontane (Sigma, St. Louis, MO, USA). The extracted fat was esterified with a chloroform, methanol, and sulfuric acid mixture, as described by Peisker [46]. The resulting FA methyl esters (FAMEs) were analyzed on a 7890A gas chromatograph (Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, USA) with a FID and a Supelcowax 10 capillary column (column length—30 m, internal diameter—0.32 mm, film thickness—0.25 m, carrier gas—helium, and temperature: detector—250 °C, injector—230 °C, and column—195 °C). FA peaks were identified by comparing their relative retention times with those of individual FAME reference standards (Supelco) diluted in hexane (1:1, 1:2, 1:3, and 1:4 v/v).

2.6. Antioxidant Status

Homogenates from egg yolks were also analyzed for lipid peroxidation products, i.e., lipid peroxide content according to Gay and Gebicki [47] and malondialdehyde (MDA) content according to Botsoglou et al. [48]. Malondialdehyde was determined based on the reaction of thiobarbituric acid (TBA) with lipid peroxidation end products in an acidic environment and increased temperature to generate a colored adduct. To eliminate the quantities of a complex series of adducts from TBA, the assay was run in the presence of inhibitors, e.g., butylated hydroxytoluene (BHT). The activity of an antioxidant enzyme, superoxide dismutase (SOD), was determined spectrophotometrically in extracted eggs using the adrenaline method [49] at a modified wavelength of 320 nm to achieve greater selectivity of intermediate reaction products. SOD activity was determined by measuring

the rate of auto-oxidation of adrenaline at 30 °C based on an increase in absorbance at 320 nm (which corresponds to the increase in the concentrations of various products of adrenaline oxidation). The activity of catalase (CAT) was determined according to Claiborne pp. 283–284 in [49]. The assay consisted of measuring the rate of substrate (hydrogen peroxide) decomposition catalyzed by this enzyme.

2.7. Sensory Evaluation

Hard-boiled eggs were subjected to a sensory evaluation. Before the analysis, the eggs were immersed in a water bath and held at a temperature of 100 °C for 15 min. At the completion of the thermal treatment, the eggs were cooled under a stream of cold running water for 15 min. Immediately after cooling, the eggs were evaluated on a five-point hedonic scale where: 5—very high quality, 4—high quality, 3—satisfactory quality, 2—unsatisfactory quality, 1—poor quality. The following sensory quality attributes were evaluated: appearance (including the appearance of the whole egg and its longitudinal cross-section), aroma, albumen texture, yolk texture, taste. The analysis was performed by six trained panelists selected for their sensory sensitivity [50] (The panelists assessed samples in individual compartments. Fluorescent white lights (500 lux) that simulated daylight were installed at a height of approximately 1 m to evenly illuminate the table. Relative air humidity of minimum 60% and temperature of 21 °C were maintained in the panel room.

2.8. Statistical Analysis

For a statistical analysis of performance parameters, a cage was considered as a replicate experimental unit. For analyses of egg quality, FA profile, and the antioxidant parameters of yolks, individual eggs were considered as experimental units. One-way ANOVA was performed with the use of Statistica 13.1 software (StatSoft Corp., Cracow, Poland). When a significant treatment effect was noted, Tukey's post hoc test was applied to determine differences between treatment groups. Data are presented as means with pooled standard error of the mean (SEM) estimates, and the value of $p \leq 0.05$ was considered statistically significant.

3. Results

The effect of hydrobarothermal treatment and fermentation on the concentrations of nutrients and ANFs in RC is presented in Table 2. In comparison with RRC, HRC was characterized by lower concentrations of CF (9.91 vs. 10.80%) and GLS (13.32 vs. 15.35 μmol/g), whereas the content of the remaining components did not change. Fermentation had a more significant influence on the nutritional value of RC; FRC had a higher content of DM (94.57 vs. 88.87%), CP (39.44 vs. 37.74%) and GE (21.86 vs. 21.19 MJ/kg) than RRC, and the lowest concentration of CF (9.29%) of all analyzed rapeseed products. The greatest changes were observed in the content of ANFs in FRC—the concentrations of PP and GLS decreased two-fold (0.833 vs. 1.607%) and nearly 17-fold (0.92 vs. 15.35 μmol/g), respectively, compared with RRC. A minor increase in NSP content was also noted (21.64 vs. 20.48%).

Table 2. Nutrient composition of rapeseed products and the presence of antinutritional factors (%, dry matter basis).

Content	RRC	HRC	FRC
Dry matter	88.87	88.45	94.57
Crude protein	37.74	37.02	39.44
Crude fat	10.80	9.91	9.29
Gross energy, MJ/kg	21.19	21.41	21.86
Phytate phosphorus	1.607	1.684	0.833
Non-starch polysaccharides [1]	20.48	20.10	21.64
Glucosinolates (μmol/g) [2]	15.35	13.32	0.92

[1] Including rhamnose, arabinose, xylose, mannose, galactose, glucose, and uronic acids. [2] Including gluconapin, glucobrassicinapin, progoitrin, glucobrassicin, hydroxyglucobrassicin, and neoglucobrassicin.

At the end of the experiment, an increase in the BW of hens was noted only in groups HRC and FRC, whereas hens fed HRC had the significantly highest final BW, relative to group C (p = 0.037, Table 3). The applied dietary treatments had no effect on egg weight, but the inclusion of 20% RRC in layer diets significantly decreased laying rate and, consequently, egg mass during the entire experiment, compared with group C (p = 0.001 and p = 0.014, respectively). Although ADFI was comparable in all groups, the FCR was highest in group RRC, and a significant difference was noted relative to group C (p = 0.026). The inclusion of HRC and FRC in layer diets had a greater beneficial influence on the above parameters, and the best results were noted in group FRC where the laying rate was comparable with that in group C and significantly higher than in group RRC. The numerical values of egg mass and the FCR were more favorable in groups HRC and FRC, compared with group RRC, but less satisfactory than in group C.

Table 3. Performance of laying hens fed raw (RRC), hydrobarothermally-treated (HRC) and fermented (FRC) rapeseed cake.

Item	Diet				SEM	*p*-Value
	C	RRC	HRC	FRC		
Initial body weight, kg	2.079	2.040	2.040	2.052	0.014	0.763
Final body weight, kg	1.997 ^{b}	2.019 ^{ab}	2.096 ^{a}	2.054 ^{ab}	0.013	0.037
Laying rate, %	96.2 ^{a}	92.9 ^{b}	94.5 ^{ab}	95.4 ^{a}	0.285	0.001
Egg weight (g)	61.9	61.5	60.7	61.3	0.243	0.325
Egg mass (kg/hen)	4.95 ^{a}	4.76 ^{b}	4.81 ^{ab}	4.84 ^{ab}	0.022	0.014
Average daily feed intake (g/hen/day)	112.6	113.2	112.2	113.3	0.252	0.374
Feed conversion ratio (kg/kg eggs)	1.899 ^{b}	1.980 ^{a}	1.959 ^{ab}	1.952 ^{ab}	0.009	0.026

^{a,b} Means within the same column with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$).

An analysis of the physicochemical properties of eggs revealed that eggshell quality was highest in group C (Table 4). The inclusion of HRC and FRC in layer diets decreased eggshell thickness and strength. Eggshell thickness was significantly lower in group HRC than in group C, and in group FRC than in group RRC (p = 0.001). Eggshell strength was lowest in group HRC (p = 0.018). Fermentation had a greater beneficial influence on the parameters of albumen quality than hydrobarothermal treatment. Both albumen height and HU values were highest in eggs produced in group FRC, and significant differences were found relative to group HRC (p = 0.001). The addition of RC to layer diets, regardless of its form, improved yolk color, and the highest values of yolk color intensity (DSM yolk color fan) were noted in group HRC (p = 0.005). The applied dietary treatments had no effect on the percentage content of yolk, albumen and shell in eggs.

Table 4. Effect of raw (RRC), hydrobarothermally-treated (HRC) and fermented (FRC) rapeseed cake on the physicochemical properties of eggs [1].

Item	Diet				SEM	*p*-Value
	C	RRC	HRC	FRC		
Eggshell strength (kg)	4.05 [a]	3.78 [ab]	3.30 [b]	3.70 [ab]	0.086	0.018
Eggshell thickness, mm	0.314 [a]	0.306 [ab]	0.288 [bc]	0.279 [c]	0.003	0.001
Yolk color	2.42 [b]	2.92 [ab]	3.50 [a]	3.17 [ab]	0.115	0.005
Albumen height, mm	7.39 [ab]	7.29 [bc]	6.43 [c]	8.22 [a]	0.146	0.001
Haugh units	84.0 [a]	83.7 [ab]	77.6 [b]	89.4 [a]	0.985	0.001
Yolk content, %	25.8	25.9	25.3	25.4	0.758	0.229
Albumen content, %	64.9	65.0	65.8	65.7	0.265	0.505
Shell content, %	9.3	9.1	8.9	8.9	0.087	0.247

[1] Data representing mean values of 12 eggs per treatment. [a,b,c] Means within the same column with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$).

Dietary protein sources had a significant effect on the FA profile of yolk lipids (Table 5). The inclusion of RRC, HRC, and FRC in layer diets contributed to an increase ($p = 0.001$) in the concentrations of linoleic acid (C18:2, n-6), linolenic acid (C18:3, n-3) and docosahexaenoic acid (DHA, C22:6, n-3). The addition of HRC led to a decrease in the content of *arachidonic acid* (AA, C20:4, n-6) in egg yolks, compared with the remaining groups ($p = 0.002$). The concentrations of SFAs were highest in egg yolks in group C ($p = 0.001$). The eggs laid by hens receiving RRC, HRC, and FRC were characterized by significantly highest proportions of PUFAs, n-6 PUFAs, and n-3 PUFAs in the total FA pool, compared with group C ($p = 0.001$), and a much more favorable n-6/n-3 PUFA ratio ($p = 0.001$). In all experimental groups fed 20% RC, eggs had a significantly higher content of hypocholesterolemic FAs and a lower content of hypercholesterolemic FAs, relative to group C ($p = 0.001$). Cholesterol concentration in egg yolks was lowest in group HRC ($p = 0.001$).

Table 5. Effect of raw (RRC), hydrobarothermally-treated (HRC) and fermented (FRC) rapeseed cake on the fatty acid composition (% of total fatty acid content) and cholesterol content of yolk lipids (%) [1].

Item	Diet				SEM	*p*-Value
	C	RRC	HRC	FRC		
C14:0	0.290 [a]	0.230 [b]	0.233 [b]	0.218 [b]	0.006	0.001
C14:1	0.060 [a]	0.024 [b]	0.022 [b]	0.021 [b]	0.003	0.001
C15:0	0.063 [ab]	0.061 [ab]	0.057 [b]	0.069 [a]	0.002	0.040
C16:0	25.4 [a]	21.9 [b]	21.5 [b]	20.8 [b]	0.340	0.001
C16:1	3.17 [a]	1.73 [b]	1.75 [b]	1.60 [b]	0.125	0.001
C17:0	0.167 [c]	0.211 [b]	0.216 [b]	0.245 [a]	0.005	0.001
C17:1	0.129	0.136	0.128	0.145	0.002	0.468
C18:0	8.13	8.54	8.05	8.45	0.086	0.120
C18:1	42.1	41.4	41.8	41.7	0.208	0.706
C18:2 (n-6)	16.2 [b]	20.5 [a]	21.2 [a]	21.3 [a]	0.451	0.001
C18:3 (n-6)	0.221 [b]	0.252 [a]	0.232 [ab]	0.255 [a]	0.004	0.006
C18:3 (n-3)	0.782 [b]	1.366 [a]	1.488 [a]	1.465 [a]	0.060	0.001
C20:1	0.223 [a]	0.190 [b]	0.189 [b]	0.210 [ab]	0.004	0.006
C20:2 (n-6)	0.134	0.157	0.167	0.168	0.005	0.096
C20:3 (n-6)	0.141	0.145	0.142	0.142	0.003	0.945
C20:4 (n-6)	1.79 [a]	1.81 [a]	1.63 [b]	1.83 [a]	0.022	0.002
C22:6 (n-3)	0.912 [c]	1.326 [ab]	1.166 [b]	1.410 [a]	0.038	0.001
SFAs	34.1 [a]	30.9 [b]	30.0 [b]	29.7 [b]	0.435	0.001
MUFAs	45.7 [a]	43.5 [b]	43.9 [ab]	43.7 [b]	0.271	0.010
PUFAs	20.2 [b]	25.6 [a]	26.0 [a]	26.6 [a]	0.539	0.001
n-3 PUFAs	1.69 [b]	2.69 [a]	2.65 [a]	2.87 [a]	0.091	0.001
n-6 PUFAs	18.5 [b]	22.9 [a]	23.4 [a]	23.7 [a]	0.455	0.001
n-6/n-3 PUFA ratio	11.52 [a]	8.52 [b]	8.81 [b]	8.26 [b]	0.267	0.001
Hypercholesterolemic FAs	26.0 [a]	22.4 [b]	22.0 [b]	21.3 [b]	0.340	0.001
Hypocholesterolemic FAs	74.0 [b]	77.6 [a]	78.0 [a]	78.7 [a]	0.340	0.001
Cholesterol	21.0 [a]	21.4 [a]	17.0 [b]	21.8 [a]	0.522	0.001

[1] Data representing mean values of 10 eggs per treatment. [a,b,c] Means within the same column with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$); SFAs—saturated fatty acids, MUFAs—monounsaturated fatty acids, PUFAs—polyunsaturated fatty acids.

Indicators of the redox status of egg yolks are presented in Table 6. Irrespective of its form, RC had no effect on the concentrations of MDA and total glutathione (GSH/GSSG) in egg yolks. A significant decrease in SOD activity (p = 0.001) and an increase in CAT activity in eggs were observed in groups RRC, HRC, and FRC, and CAT activity was higher in group FRC (p = 0.002) than in group C. An analysis of LOOH concentrations revealed that the content of lipid oxidation products increased significantly in the yolks of eggs laid by hens fed RRC (p = 0.001). Both hydrobarothermal treatment and fermentation of RC decreased LOOH concentrations in egg yolks, compared with RRC and significant differences were noted in group FRC where LOOH concentrations were comparable with those in group C.

Table 6. Redox parameters of egg yolks sampled from layers fed a control diet (C), and diets containing raw (RRC), hydrobarothermally-treated (HRC) or fermented rapeseed cake (FRC) [1].

Item	Diet				SEM	*p*-Value
	C	RRC	HRC	FRC		
SOD, U/g	123.7 [a]	99.8 [b]	98.5 [b]	104.7 [b]	2.252	0.001
CAT, U/g	29.7 [b]	32.9 [b]	37.0 [ab]	42.3 [a]	1.295	0.002
MDA, µmol/kg	7.38	7.67	7.61	7.66	0.148	0.900
LOOH, µmol/L	5.14 [b]	6.51 [a]	5.61 [ab]	5.12 [b]	0.151	0.001
GSH + GSSG, µmol/kg	4.01	4.06	4.05	4.59	0.142	0.443

[1] Data representing mean values of 10 eggs per treatment. [a,b] Means within the same column with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$); SOD, superoxide dismutase; CAT, catalase; MDA, malondialdehyde; LOOH, lipid peroxides; GSH + GSSG, total glutathione.

Regardless of its form, RC added to layer diets had no negative effect on the major sensory attributes of eggs, such as general appearance, albumen texture, yolk texture, and, in particular, taste and aroma (Table 7). A statistical analysis of the results of sensory evaluation demonstrated that eggs produced in group FRC received the highest overall score.

Table 7. Average intensity values of egg sensory attributes [1].

Item	Diet				SEM	*p*-Value
	C	RRC	HRC	FRC		
General appearance	3.65 [b]	3.80 [b]	3.70 [b]	4.25 [a]	0.065	0.002
Aroma	3.75 [b]	3.75 [b]	3.75 [b]	4.15 [a]	0.057	0.020
Albumen texture	3.80 [ab]	3.80 [ab]	3.65 [b]	4.25 [a]	0.069	0.008
Yolk texture	3.80 [b]	3.70 [b]	3.80 [b]	4.30 [a]	0.067	0.004
Taste	3.60 [b]	3.65 [b]	3.65 [b]	4.35 [a]	0.071	0.001

[1] Data representing mean values of 10 eggs per treatment. [a,b] Means within the same column with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$).

4. Discussion

Previous research has demonstrated that hydrothermal and fermentation processes can improve the quality of poultry diets by modifying their chemical composition and reducing the content of ANFs in selected feed components [24,51,52]. In the present study, the content of essential nutrients in RC was not affected by hydrobarothermal treatment or fermentation. The small increase in the crude protein content of FRC can be probably attributed to changes in DM content, rather than an actual increase in protein content [28]. The above observation could also explain the small increase in NSP levels in FRC. In turn, significant changes in ANF content were noted in the components of experimental diets. Glucosinolate levels decreased by 2% in HRC, but they were nearly 17 times lower in FRC than in RRC. Vig and Walia [27] and Chiang et al. [28] observed that the decrease in the GLS content of RMS was proportional to fermentation time, and that isothiocyanate

concentration decreased by as much as 83% after 30 days of fermentation. The decrease in the content of GLS and their degradation products during fermentation could be attributed to the breakdown of glucose and sulfur molecules by microbial enzymes [10]. In turn, high-pressure thermal processing inactivates myrosinase that contributes to GLS hydrolysis, leading to the formation of ANFs [53]. The content of PP was two times lower in FRC than in RRC and HRC. According to Fazhi et al. [54], microbial phytases can be used to reduce the PA content of rapeseed during fermentation. In the literature, various microorganisms have been analyzed for their ability to produce phytase and reduce the PA levels in RSM during fermentation [55,56].

Diets with increased content of rapeseed products can compromise feed intake in poultry because GLS degradation products have a bitter taste [12]. Raw RC is also high in fiber, which increases satiety and can additionally decrease feed intake [57]. Numerous studies have demonstrated that diets containing more than 100 g of RSM/kg can reduce feed intake and decrease egg weight [58–60]. Interestingly, the above relationship was not observed in the current study, where ADFI and egg weight were comparable in all groups. However, the inclusion of RRC in hen diets significantly decreased the laying rate and egg mass, and it compromised the FCR during the entire experiment. Both rapeseed treatments improved the laying rate, and in groups HRC and FRC, all parameters (that deteriorated in group RRC) were comparable to those noted in group C. Similar results were reported by Jeroch et al. [61,62] who observed that the rapeseed content of layer diets can even be increased to 30% without compromising performance when ANF levels are reduced through combined chemical and hydrothermal treatment.

Eggshell quality plays a very important role in the egg industry [63]. In the present study, layer diets containing 20% of raw or processed RC had a negative influence on eggshell thickness and strength. In the experiments conducted by Riyazi et al. [64], Świątkiewicz et al. [65] and Zhu et al. [66], the incorporation of rapeseed products into layer diets did not affect eggshell quality, whereas Sasyte et al. [26] reported that even small amounts of extruded rapeseed decreased eggshell thickness. Interestingly, in the present study, RRC produced more desirable effects than HRC or FRC, since despite lower numerical values of the analyzed parameters, the results noted in group RRC were statistically comparable to those noted in group C. This was an unexpected outcome because the application of FRC, which was far less abundant in PP than other experimental feed components, should have improved eggshell quality. According to Skřivan et al. [67], high dietary levels of PP decrease phosphorus utilization by laying hens, which can compromise eggshell quality. In turn, FRC improved the parameters of albumen quality. The eggs produced in group FRC were characterized by the highest albumen quality, determined based on albumen height and HU values, and the noted differences were significant relative to group HRC. The above can probably be attributed to a much lower content of GLS in FRC, compared with RRC and HRC. According to Zhu et al. [66], GLS metabolites can inhibit ovalbumin synthesis, decrease albumen height and HU values. However, studies examining the influence of rapeseed products on albumen quality produced ambiguous results. In the work of Lichovníková et al. [68] and Riyazi et al. [64], the incorporation of RSM into layer diets did not affect HU values, whereas in a study by Najib and Al.-Khateeb [59], HU values increased with a rise in the proportion of canola meal in layer diets. However, the effect of treated rapeseed feeds on the above parameters has not been investigated to date. In the present study, the inclusion of rapeseed products in layer diets increased yolk color intensity, which corroborates the findings of other authors [59,60,66]. Treated RC, in particular HRC, delivered the most satisfactory results, but further research is needed to confirm this relationship.

The FA profile of eggs is an important quality attribute for consumers, and efforts are being made to modify layer diets and further improve the FA profile of eggs [69]. Egg yolk PUFAs that deliver the greatest health benefits include linoleic acid (C18:2 n-6, a substrate for the biosynthesis of other long-chain FAs), linolenic acid (C18:3 n-3), EPA (C20:5 n-3), and DHA (C22:6 n-3) [70]. Most of these FAs belong to the family of n-3 PUFAs

that contribute to cardiovascular health, brain development and cognitive functioning, and reduce the risk of cancer, autoimmune diseases and diabetes [71,72]. These PUFAs are not synthesized by the body and must be supplied in the diet. In the current study, none of the applied treatments influenced the FA profile of egg yolks relative to group C, whereas all diets containing RRC, HRC, or FRC improved the FA profile of egg yolks relative to group C by increasing the content of linoleic acid, linolenic acid, and DHA, and decreasing the n-6/n-3 PUFA ratio. Buckiuniene et al. [73] reported that an increase in the concentrations of n-3 PUFAs decreased the n-6/n-3 PUFA ratio and enhanced the FA profile of egg yolks. According to the World Health Organization (WHO) recommendations for dietary fat intake, the optimal n-6/n-3 PUFA ratio in the human diet is 4:1 [74]. Kaczmarek et al. [75] observed that RC, a rich source of n-3 PUFAs (including linoleic and linoleic acids) with an n-6/n-3 PUFA ratio of around 2, delivers greater health benefits for monogastric animals than other feeds, which undoubtedly affected the results of the present study. The beneficial effects of rapeseed oil on the FA profile of chicken eggs have been confirmed by many researchers [5,76,77]. However, the influence of fermented or hydrobarothermally-treated RC on the FA profile of chicken eggs has never been examined in the literature. It should be noted that despite the absence of significant differences, egg yolks in group FRC were characterized by the numerically highest content of n-3 PUFAs and the most desirable n-6/n-3 PUFA ratio.

An analysis investigating the effects of various RRC treatments on the cholesterol content of eggs produced rather surprising results. Panaite et al. [78] demonstrated that diets rich in PUFAs can effectively reduce egg cholesterol levels. In the present study, the eggs produced in groups RRC, HRC, and FRC were characterized by the significantly lowest levels of hypercholesterolemic FAs and the highest levels of hypocholesterolemic Fas, which is why egg cholesterol levels were expected to decrease in all experimental groups. Despite the above, egg cholesterol levels decreased significantly only in group HRC, which is difficult to explain. It can only be speculated that lower egg cholesterol levels in group HRC were associated with the metabolism of carotenoids that were easily absorbed, transferred to the egg yolk and significantly improved yolk color. According to Yeum and Russel [79], diets rich in carotenoids decrease cholesterol levels in the blood serum and, probably, in egg yolks.

As previously noted, the inclusion of RC in layer diets increased the content of n-3 PUFAs in egg yolks. However, egg yolks are abundant in lipids, and their susceptibility to peroxidation may increase when layers are fed diets rich in PUFAs [80]. This process leads to the production of MDA, the end product of lipid peroxidation, and the MDA content of tissues indirectly reflects the degree of lipid peroxidation by reactive oxygen species (ROS) [81]. In the current study, the MDA content of egg yolks was comparable in all experimental groups, whereas SOD activity decreased significantly in all groups fed RC, and an increase was observed in CAT activity, in particular in group FRC. Superoxide dismutase and CAT are the main antioxidant enzymes that scavenge ROS via a chain reaction [82]. The MDA content of eggs remained stable, which suggests that dietary modifications did not induce oxidative processes. The observed changes in the activity of antioxidant enzymes could also indicate that RC, in particular FRC, enhances the protective potential of antioxidant enzymes, as demonstrated by the lowest MDA levels and increased CAT activity. According to Ognik and Krauze [83], SOD and CAT activity can be increased or decreased through the addition of feed additives and components with antioxidant properties, but the direction of changes in enzyme activity can be determined by the initial redox potential.

Numerous researchers have demonstrated that the addition of rapeseed products to layer diets can compromise the sensory attributes of eggs, in particular by imparting a fishy taint to eggs [84–86]. In the present study, the inclusion of 20% RRC and HRC in layer diets did not affect the taste, aroma, or texture of eggs. Interestingly, FRC significantly improved the above attributes in comparison with control group eggs. In the work of Lichovníková et al. [68] and Świątkiewicz et al. [87], these attributes were already compromised after the

addition of 8% untreated rapeseed and rapeseed expeller cake to layer diets, which was attributed to the presence of TMA in the eggs laid by brown hens. The above observation was not confirmed in the current study, and the inclusion of FRC in layer diets led to the production of eggs with the highest sensory quality. These differences could be explained by lower GLS content and, consequently, lower levels of goitrin which inhibits the oxidation of TMA to odorless compounds.

5. Conclusions

Hydrobarothermal treatment and fermentation decreased the GLS content of RC, and fermentation reduced PP concentration. As a result, HRC and FRC exerted a greater beneficial influence on the laying performance of hens than raw RRC. RRC, HRC, and FRC can be included at 20% in layer diets because they do not compromise the sensory quality of eggs and have a beneficial influence on the FA profile and antioxidant potential of egg yolks. The use of FRC is recommended because it contributes to the highest laying performance, superior albumen quality, and the highest sensory quality of eggs, relative to RRC and HRC.

Author Contributions: Conceptualization, A.A.D.; data curation, A.A.D. and M.K.; formal analysis, M.K., A.A.D., K.Ś. and K.O.; investigation, K.O. and A.A.D.; methodology, A.A.D., K.Ś. and K.O.; writing—original draft, M.K. and A.A.D.; writing—review and editing, A.A.D., M.K. and K.O. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: Project financially supported by the Minister of Education and Science under the program entitled "Regional Initiative of Excellence" for the years 2019-2022, Project No. 010/RID/2018/19, amount of funding 12.000.000 PLN. under the program entitled "Regional Initiative of Excellence" for the years 2019–2022, Project No. 010/RID/2018/19, amount of funding PLN 12,000,000.

Institutional Review Board Statement: The trial with laying hens was conducted at the Animal Research Laboratory (De-partment of Poultry Science and Apiculture, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland) in accordance with EU Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes.

Acknowledgments: The authors would like to thank Anna Rogiewicz and Bogdan A. Slonimski from the Department of Animal Science at the University of Manitoba, Winnipeg, MB, Canada, for technical support.

Conflicts of Interest: The authors declare that they have no competing interest.

References

1. FAO. *Food Outlook—Biannual Report on Global Food Markets: June 2020*; FAO: Rome, Italy, 2020. Available online: https://reliefweb.int/report/world/food-outlook-biannual-report-global-food-markets-june-2020 (accessed on 11 June 2020).
2. Angelovičová, M.; Angelovič, M. Rapeseed Cakes as an Important Feed Raw Material for Laying Hens. *Sci. Pap. Anim. Sci. Biotechnol.* **2013**, *46*, 335–338.
3. Smulikowska, S.; Czerwiński, J.; Mieczkowska, A. Nutritional value of rapeseed expeller cake for broilers: Effect of dry extrusion. *J. Anim. Feed Sci.* **2006**, *15*, 447–455. [CrossRef]
4. Bedekovic, D.; Pintar, J.; Janjecic, Z.; Mužic, S.; Kos, I. Using Rapeseed Cake to Improve Fatty Acid Composition of Turkey Meat. *J. Agr. Sci. Technol.* **2014**, *16*, 1279–1287.
5. Faitarone, A.B.G.; Garcia, E.A.; Roca, R.O.; Andrade, E.N.; Vercese, F.; Pelicia, K. Yolk Color and Lipid Oxidation of the Eggs of Commercial White Layers Fed Diets Supplemented with Vegetable Oils. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* **2016**, *18*, 9–16. [CrossRef]
6. Szydłowska-Czerniak, A. Rapeseed and its Products—Sources of Bioactive Compounds: A Review of their Characteristics and Analysis. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2013**, *53*, 307–330. [CrossRef]
7. Knudsen, K.E. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Anim. Feed Sci. Technol.* **1997**, *67*, 319–338. [CrossRef]
8. Lim, H.S.; Namkung, H.; Paik, I.K. Effects of phytase supplementation on the performance, egg quality, and phosphorous excretion of laying hens fed different levels of dietary calcium and nonphytate phosphorous. *Poult. Sci.* **2003**, *82*, 92–99. [CrossRef]
9. Kozłowski, K.; Jankowski, J.; Jeroch, H. Efficacy of different levels of Escherichia coli phytase in hens fed maize-soyabean meal based diets with a decreased non-phytate phosphorus content. *J. Anim. Feed Sci.* **2011**, *20*, 224–235. [CrossRef]
10. Tripathi, M.K.; Mishra, A.S. Glucosinolates in animal nutrition: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2007**, *132*, 1–27. [CrossRef]

11. Ward, A.K.; Classen, H.L.; Buchanan, F.C. Fishy-egg tainting is recessively inherited when brown-shelled layers are fed canola meal. *Poult. Sci.* **2009**, *88*, 714–721. [CrossRef]
12. Fenwick, G.R.; Curl, C.L.; Butler, E.J.; Greenwood, N.M.; Pearson, A.W. Rapeseed meal and egg taint: Effects of low glucosinolate Brassica napus meal, dehulled meal and hulls, and of neomycin. *J. Sci. Food Agric.* **1984**, *35*, 749–756. [CrossRef]
13. Mawson, R.; Heaney, R.K.; Zduńczyk, Z.; Kozłowska, H. Rapeseed meal-glucosinolates and their antinutritional effects. Part 6. Taint in end-products. *Food/Nahrung* **1995**, *39*, 21–31. [CrossRef]
14. Thomas, D.; Robblee, A.R.; Clandinin, D.R. Effects of low and high glucosinolate rapeseed meals on productive performance, egg quality, composition of liver and incidence of haemorrhagic liver syndrome in laying birds. *Br. Poult. Sci.* **1978**, *19*, 449–454. [CrossRef]
15. Mawson, R.; Heaney, R.; Zduńczyk, Z.; Kozłowska, H. Rapeseed meal-glucosinolates and their antinutritional effects Part 5. Animal reproduction. *Nahrung* **1994**, *38*, 588–598. [CrossRef] [PubMed]
16. Jia, W.; Slominski, B.A.; Guenter, W.; Humphreys, A.; Jones, O. The effect of enzyme supplementation on egg production parameters and omega-3 fatty acid deposition in laying hens fed flaxseed and canola seed. *Poult. Sci.* **2008**, *87*, 2005–2014. [CrossRef] [PubMed]
17. Khajali, F.; Slominski, A. Factors that affect the nutritive value of canola meal for poultry. *Poult. Sci.* **2012**, *91*, 2564–2575. [CrossRef] [PubMed]
18. Savary, R.K.; MacIsaac, J.; Rathgeber, B.M.; McLean, N.L.; Anderson, D.M. Evaluating Brassica napus and Brassica juncea meals with supplemental enzymes for use in brown-egg laying hen diets: Production performance and egg quality factors. *Can. J. Anim. Sci.* **2019**, *99*, 820–832. [CrossRef]
19. Dänicke, S.; Kracht, W.; Jeroch, H.; Zachmann, R.; Heidenreich, E.; Löwe, R. Effect of different technical treatments of rapeseed on the feed value for broilers and laying hens. *Arch. Anim. Nutr.* **1998**, *51*, 53–62. [CrossRef] [PubMed]
20. Feng, D.; Zuo, J. Nutritional and anti-nutritional composition of rapeseed meal and its utilization as a feed ingredient foranimal. In Proceedings of the 12th IRC Rapeseed Conference, Wuhan, China, 26–30 March 2007; pp. 265–270.
21. Kozłowski, K.; Jeroch, H. Enhancing the Nutritional Value of Poultry Feedstuffs Using the Example of Rapeseed Products—A Review. *Ann. Anim. Sci.* **2014**, *14*, 245–256. [CrossRef]
22. Newkirk, R.W.; Classen, H.L. The effects of toasting canola meal on body weight, feed conversion efficiency, and mortality in broiler chickens. *Poult. Sci.* **2002**, *81*, 815–825. [CrossRef]
23. Milošević, N.; Stanaćev, V.; Perić, L.; Žikić, D.; Dukić-Stojčić, M.; Milić, D. Use extruded rapeseed meal in the feed of broiler chickens. *Biotechnol. Anim. Husb.* **2011**, *27*, 1681–1687. [CrossRef]
24. Zentek, J.; Goodarzi-Boroojeni, F. (Bio)Technological processing of poultry and pig feed: Impact on the composition, digestibility, anti-nutritional factors and hygiene. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2020**, *268*, 114576. [CrossRef]
25. Lichovníková, M.; Klecker, D.; Zeman, L. The effect of extruded rapeseed feed on laying performance and quality of eggs. *Czech J. Anim. Sci.* **2000**, *45*, 493–499.
26. Sasyte, V.; Grashorn, M.A.; Klementaviciute, J.; Viliene, V.; Raceviciute-Stupeliene, A.; Gruzauskas, R.; Dauksiene, A.; Alijosius, S. Effect of extruded full-fat rapeseed on egg quality in laying hens. *Eur. Poult. Sci.* **2017**, *81*, 201. [CrossRef]
27. Vig, A.P.; Walia, A. Beneficial effects of Rhizopus oligosporus fermentation on reduction of glucosinolates, fibre and phytic acid in rapeseed (*Brassica napus*) meal. *Bioresour. Technol.* **2001**, *78*, 309–312. [CrossRef] [PubMed]
28. Chiang, L.; Lu, W.Q.; Piao, X.S.; Hu, J.K.; Gong, L.M.; Thacker, P.A. Effects of feeding solid-state fermented rapeseed meal on performance, nutrient digestibility, intestinal ecology and intestinal morphology of broiler chickens. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **2010**, *23*, 263–271. [CrossRef]
29. Zaworska, A.; Kasprowicz-Potocka, M.; Frankiewicz, A.; Zduńczyk, Z.; Jaśkiewicz, J. Effects of fermentation of narrow-leafed lupine (*L. angustifolius*) seeds on their chemical composition and physiological parameters in rats. *J. Anim. Feed Sci.* **2016**, *25*, 326–334. [CrossRef]
30. Drażbo, A.; Mikulski, D.; Jankowski, J.; Zduńczyk, Z. The effect of diets containing raw and fermented faba beans on gut functioning and growth performance in young turkeys. *J. Anim. Feed Sci.* **2018**, *27*, 65–73. [CrossRef]
31. Gao, M.; Cieślak, A.; Kierończyk, B.; Huang, H.; Yanza, Y.R.; Zaworska-Zakrzewska, A.; Józefiak, D.; Szumacher-Strabel, M. Effects of Raw and Fermented Rapeseed Cake on Growth Performance, Methane Production, and Breast Meat Fatty Acid Composition in Broiler Chickens. *Animals* **2020**, *10*, 2250. [CrossRef] [PubMed]
32. Drażbo, A.; Kozłowski, K.; Ognik, K.; Zaworska, A.; Jankowski, J. The effect of raw and fermented rapeseed cake on growth performance, carcass traits, and breast meat quality in turkey. *Poult. Sci.* **2019**, *98*, 6161–6169. [CrossRef] [PubMed]
33. Engberg, R.M.; Hammershoj, M.; Johansen, N.F.; Abousekken, M.S.; Steenfeldt, S.; Jensen, B.B. Fermented feed for laying hens: Effects on egg production, egg quality, plumage condition and composition and activity of the intestinal microflora. *Br. Poult. Sci.* **2009**, *50*, 228–239. [CrossRef]
34. OJEU. Directive 2010/63/EU of the European parliament and of the council on the protection of animals used for scientific purposes. *Off. J. Eur. Union.* **2010**, *276*, 33–79.
35. Drażbo, A.; Ognik, K.; Zaworska, A.; Ferenc, K.; Jankowski, J. The effect of raw and fermented rapeseed cake on the metabolic parameters, immune status, and intestinal morphology of turkeys. *Poult. Sci.* **2018**, *97*, 3910–3920. [CrossRef] [PubMed]
36. AOAC. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 18th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, USA, 2007.

37. Englyst, H.N.; Cummings, J.H. Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst* **1984**, *109*, 937–942. [CrossRef]
38. Englyst, H.N.; Cummings, J.H. Improved method for the determination of dietary fiber as non-starch polysaccharidesin plant foods. *J. AOAC Int.* **1988**, *71*, 808–814. [CrossRef]
39. Slominski, B.A.; Campbell, L.D. Non-starch polysaccharides of canola meal: Quantification, digestibility in poultry and potential benefit of dietary enzyme supplementation. *J. Sci. Food Agric.* **1990**, *53*, 175–184. [CrossRef]
40. Scott, R.W. Colorimetric determination of hexuronic acids in plant materials. *Anal. Chem.* **1979**, *51*, 936–941. [CrossRef]
41. Slominski, B.A.; Campbell, L.D. Gas chromatographic determination of indole glucosinolates-a re-examination. *J. Sci. Food Agric.* **1987**, *40*, 131–143. [CrossRef]
42. Smulikowska, S.; Rutkowski, A. (Eds.) Recommended Allowances and Nutritive Value of Feedstuffs. In *Poultry Feeding Standards*, 4th ed.; The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, PAS: Jablonna, Poland, 2005. (in Polish)
43. Haugh, R.R. The Haugh unit for measuring egg quality. *US Egg Poult. Mag.* **1937**, *43*, 522–555.
44. Folch, J.; Lees, M.; Sloane-Stanley, G.H. A simple method for isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **1957**, *226*, 497–509. [CrossRef]
45. International Dairy Federation. *Provisional Standard (159): Milk and Milk Fat Product-Determination of Cholesterol Content*; IDF: Brussels, Belgium, 1992.
46. Peisker, K.V. A rapid semi-micro method for preparation of methyl esters from triglycerides using chloroform, methanol, sulphuric acid. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **1964**, *41*, 87–88. [CrossRef]
47. Gay, C.; Gebicki, J.M. Perchloric acid enhances sensitivity and reproducibility of the ferric-xylenol orange peroxide assay. *Anal. Biochem.* **2002**, *304*, 42–46. [CrossRef]
48. Botsoglou, N.A.; Fletouris, D.J.; Papageorgiou, G.E.; Vassilopoulos, V.N.; Mantis, A.J.; Trakatellis, A.G. Rapid sensitive and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food and feed-stuff samples. *J. Agr. Food Chem.* **1994**, *42*, 1931–1937. [CrossRef]
49. Greenwald, R.A. *CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 1985.
50. ISO 2012. *Sensory Analysis—General Guidelines for the Selection, Training and Monitoring of Selected Assessors and Expert Sensory Assessors*; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2012.
51. Fenwick, G.R.; Spinks, E.A.; Wilkinson, A.P.; Heany, R.K.; Legoy, M.A. Effect of processing on the antinutrient content of rape seed. *J. Sci. Food Agric.* **1986**, *37*, 735–741. [CrossRef]
52. Goodarzi-Boroojeni, F.; Kozłowski, K.; Jankowski, J.; Senz, M.; Wiśniewska, M.; Boros, D.; Drażbo, A.; Zentek, J. Fermentation and enzymatic treatment of pea for turkey nutrition. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2018**, *237*, 78–88. [CrossRef]
53. Huang, S.; Liang, M.; Lardy, G.; Huff, H.E.; Kerley, M.S.; Hsieh, F. Extrusion processing of rapeseed meal for reducing glucosinolates. *Anim. Feed Sci. Technol.* **1995**, *56*, 1–9. [CrossRef]
54. Fazhi, X.; Lvmu, L.; Jiaping, X.; Kun, Q.; Zhide, Z.; Zhangyi, L. Effects of Fermented Rapeseed Meal on Growth Performance and Serum Parameters in Ducks. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **2011**, *24*, 678–684. [CrossRef]
55. Al-Asheh, S.; Duvnjak, Z. Phytase production and decrease of phytic acid content in canola meal by Aspergillus carbonarius in solid state fermentation. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **1995**, *11*, 228–231. [CrossRef]
56. Ebune, A.; Al-Asheh, S.; Duvnjak, Z. Production of phytase during solid state fermentation using Aspergillus ficuum NRRL 3135 in canola meal. *Bioresour. Technol.* **1995**, *53*, 7–12. [CrossRef]
57. Razdan, A.; Pettersson, D.; Pettersson, J. Broiler chickenbody weights, feed intakes, plasma lipid and small-intestinal bileacid concentrations in response to feeding of chitosan and pectin. *Br. J. Nutr.* **1997**, *78*, 283–291. [CrossRef]
58. Leslie, A.; Summers, J. Feeding value of rapeseed for laying hens. *Can. J. Anim.* **1972**, *52*, 563–566. [CrossRef]
59. Najib, H.; Al-Khateeb, S.A. The effect of incorporating different levels of locallyproduced canola seeds (*Brassica napus* L.) in the diet of laying hen. *Int. J. Poult. Sci.* **2004**, *3*, 490–496. [CrossRef]
60. Zhu, L.P.; Wang, J.P.; Ding, X.M.; Bai, S.P.; Zeng, Q.F.; Su, Z.W.; Xuan, Y.; Zhang, K.Y. Effects of dietary rapeseed meal on laying performance, egg quality, apparent metabolic energy, and nutrient digestibility in laying hens. *Livest. Sci.* **2018**, *214*, 265–271. [CrossRef]
61. Jeroch, H.; Dänicke, S.; Zachmann, R. Zum Futterwert und zur Eignung von Rapsexpellern in der Legehennenfütterung. *Agribiol. Res.* **1995**, *48*, 248–256.
62. Jeroch, H.; Jankowski, J.; Schöne, F. Rapsfuttermittel in der Broiler- und Legehennenfütterung. *Arch. Geflügelk.* **2008**, *72*, 49–55.
63. Roberts, J.R. Factors Affecting Egg Internal Quality and Egg Shell Quality in Laying Hens. *J. Poult. Sci.* **2004**, *41*, 161–177. [CrossRef]
64. Riyazi, S.R.; Ebrahimnezhad, Y.; Nazeradl, K.; Maheri-Sis, N.; Salamatdust, R.; Vahdatpour, T. The effects of replacing soybean meal with different levels of rapeseed meal on egg quality characteristics of commercial laying hens. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* **2009**, *4*, 337–341. [CrossRef]
65. Świątkiewicz, S.; Koreleski, J.; Arczewska, A. Laying performance and eggshell quality in laying hens fed diets supplemented with prebiotics and organic acids. *Czech J. Anim. Sci.* **2010**, *55*, 294–306. [CrossRef]
66. Zhu, L.P.; Wang, J.P.; Ding, X.M.; Bai, S.P.; Zeng, Q.F.; Su, Z.W.; Xuan, Y.; Applegate, T.J.; Zhang, K.Y. The effects of varieties and levels of rapeseed expeller cake on egg production performance, egg quality, nutrient digestibility, and duodenum morphology in laying hens. *Poult. Sci.* **2019**, *98*, 4942–4953. [CrossRef]

67. Skřivan, M.; Englmaierová, M.; Skřivanová, V. Negative Effect of Phytase Superdosing in Laying Hens. *Czech J. Anim. Sci.* **2018**, *63*, 182–187. [CrossRef]
68. Lichovníková, M.; Zeman, L.; Jandásek, J. The effect of feeding untreated rapeseed and iodine supplement on egg quality. *Czech J. Anim. Sci.* **2008**, *53*, 77–82. [CrossRef]
69. Favé, G.; Coste, T.C.; Armand, M. Physicochemical properties of lipids: New strategies to manage fatty acid bioavailability. *Cell. Mol. Biol.* **2004**, *50*, 815–831. [CrossRef]
70. Tomaszewska, E.; Muszyński, S.; Arczewska-Włosek, A.; Domaradzki, P.; Pyz-Łukasik, R.; Donaldson, J.; Świątkiewicz, S. Cholesterol Content, Fatty Acid Profile and Health Lipid Indices in the Egg Yolk of Eggs from Hens at the End of the Laying Cycle, Following Alpha-Ketoglutarate Supplementation. *Foods* **2021**, *10*, 596. [CrossRef]
71. MacLean, C.H.; Newberry, S.J.; Mojica, W.A.; Khanna, P.; Issa, A.M.; Suttorp, M.J.; Lim, Y.W.; Traina, S.B.; Hilton, L.; Garland, R.; et al. Effects of omega-3 fatty acids on cancer risk: A systematic review. *JAMA* **2006**, *295*, 403–415. [CrossRef]
72. Koppenol, A.; Delezie, E.; Aerts, J.; Willems, E.; Wang, Y.; Franssens, L.; Everaert, N.; Buyse, J. Effect of the ratio of dietary n-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on broiler breeder performance, egg quality, and yolk fatty acid composition at different breeder ages. *Poult. Sci.* **2014**, *93*, 564–573. [CrossRef] [PubMed]
73. Buckiuniene, V.; Alencikiene, G.; Miezeliene, A.; Raceviciute-Stupeliene, A.; Bliznikas, S.; Gruzauskas, R. Effect of sunflower and rapeseed oil, organic and inorganic selenium and vitamin e in the diet on yolk fatty acids profile, malondialdehydes concentration and sensory quality of laying hens eggs. *Vet. Med. Zoot.* **2018**, *76*, 21–28.
74. Osek, J.; Gallien, P. Molecular analysis of Escherichia coli O157 strains isolated from cattle and pigs by the use of PCR and pulsed-field gel electrophoresis methods. *Vet. Med.—Czech* **2002**, *47*, 149–158. [CrossRef]
75. Kaczmarek, P.; Korniewicz, D.; Lipiński, K.; Mazur, M. Chemical composition of rapeseed products and their use in pig nutrition. *Pol. J. Natur. Sc.* **2016**, *31*, 545–562.
76. Halle, I.; Schöne, F. Influence of rapeseed cake, linseed cake and hemp seed cake on laying performance of hens and fatty acid composition of egg yolk. *J. Verbrauch. Lebensm.* **2013**, *8*, 185–193. [CrossRef]
77. Wang, H.; Zhang, H.J.; Wang, X.C.; Wu, S.G.; Wang, J.; Xu, L.; Qi, G.H. Dietary choline and phospholipid supplementation enhanced docosahexaenoic acid enrichment in egg yolk of laying hens fed a 2% Schizochytrium powder-added diet. *Poult. Sci.* **2017**, *96*, 2786–2794. [CrossRef]
78. Panaite, T.D.; Turcu, R.P.; Soica, C.; Visinescu, P. Nutritional parameters of eggs from laying hens fed with flaxseed meal or mixture with rapeseed meal or rice bran. *J. Appl. Anim. Res.* **2020**, *48*, 566–574. [CrossRef]
79. Yeum, K.J.; Russell, R.M. Carotenoid bioavailability and bioconversion. *Annu. Rev. Nutr.* **2002**, *22*, 483–504. [CrossRef]
80. An, S.Y.; Guo, M.Y.; Ma, S.D.; Yuan, M.J.; Liu, G.Z. Effect of different oil sources and vitamin E in breeder diet on egg quality, hatchability and development of the neonatal offspring. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **2010**, *23*, 234–239. [CrossRef]
81. Yang, R.L.; Li, W.; Shi, Y.H.; Le, G.W. Lipoic acid prevents high-fat diet-induced dyslipidemia and oxidative stress: A microarray analysis. *Nutrition* **2008**, *24*, 582–588. [CrossRef]
82. Rajput, I.R.; Li, Y.L.; Xu, X.; Huang, Y.; Zhi, W.C.; Yu, D.Y.; Li, W. Supplementary Effects of Saccharomyces boulardii and Bacillus subtilis B10 on Digestive Enzyme Activities, Antioxidation Capacity and Blood Homeostasis in Broiler. *Int. J. Agric. Biol.* **2013**, *15*, 231–237.
83. Ognik, K.; Krauze, M. The potential for using enzymatic assays to assess the health of turkeys. *World's Poul. Sci. J.* **2016**, *72*, 535–550. [CrossRef]
84. Elangovan, A.V.; Verma, S.V.S.; Sastry, V.R.B.; Singh, S.D. Effect of Feeding High Glucosinolate Rapeseed Meal to Laying Japanese Quail. *Asian-Aust, J. Anim. Sci.* **2001**, *14*, 1304–1307. [CrossRef]
85. Goldberg, E.M.; Ryland, D.; Alianj, M.; House, J.D. Interactions between canola meal and flaxseed oil in the diets of White Lohmann hens on fatty acid profile and sensory characteristics of table eggs. *Poult. Sci.* **2016**, *94*, 1805–1812. [CrossRef]
86. Grigorova, S.; Surdjiiska, S.; Gjorgovska, N. Effects of the use of high-protein rapeseed feed on laying productivity and egg quality in japanese quails. *Scientific Pap. Ser. D Anim. Sci.* **2017**, *60*, 85–90.
87. Świątkiewicz, S.; Koreleski, J. Effect of crude glycerin level in the diet of laying hens on egg performance and nutrient utilization. *Poult. Sci.* **2009**, *88*, 615–619. [CrossRef]

Dr hab. Aleksandra Drażbo
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Katedra Drobiarstwa i Pszczelnictwa
ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

Mgr inż. Magdalena Orlich
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Katedra Drobiarstwa i Pszczelnictwa
ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

OŚWIADCZENIE DOTYCZĄCE WKŁADU W PRZYGOTOWANIE OPUBLIKOWANYCH PRAC NAUKOWYCH

Jako jeden ze współautorów niżej wymienionej pracy, deklaruję następujący udział w jej powstaniu:

Kopacz, M., **Drażbo, A.A.,** Śmiecińska, K., Ognik, K. Performance and Egg Quality of Laying Hens Fed Diets Containing Raw, Hydrobarothermally-Treated and Fermented Rapeseed Cake. Animals 2021, 11, 3083. https:// doi.org/10.3390/ani11113083

Udział w przygotowaniu manuskryptu, opracowaniu i interpretacji wyników oraz w korekcie publikacji po recenzjach.

Łączny wkład: 20%

A. Drażbo 7.07.2023
.....
Podpis i data

Dr hab. Katarzyna Śmiecińska
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa
Surowców Zwierzęcych
ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

Mgr inż. Magdalena Orlich
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Katedra Drobiarstwa i Pszczelnictwa
ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

OŚWIADCZENIE DOTYCZĄCE WKŁADU W PRZYGOTOWANIE OPUBLIKOWANYCH PRAC NAUKOWYCH

Jako jeden ze współautorów niżej wymienionej pracy, deklaruję następujący udział w jej powstaniu:

Kopacz, M., Drażbo, A.A., **Śmiecińska, K.,** Ognik, K. Performance and Egg Quality of Laying Hens Fed Diets Containing Raw, Hydrobarothermally-Treated and Fermented Rapeseed Cake. Animals 2021, 11, 3083. https:// doi.org/10.3390/ani11113083

Udział w wykonaniu analiz i opracowaniu i interpretacji wyników.

Łączny wkład: 10%

Katarzyna Śmiecińska
Podpis i data
03.07.2023r

Prof. dr hab. Katarzyna Ognik
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Katedra Biochemii i Toksykologii
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

Mgr inż. Magdalena Orlich
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Katedra Drobiarstwa i Pszczelnictwa
ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

OŚWIADCZENIE DOTYCZĄCE WKŁADU W PRZYGOTOWANIE OPUBLIKOWANYCH PRAC NAUKOWYCH

Jako jeden ze współautorów niżej wymienionej pracy, deklaruję następujący udział w jej powstaniu:

Kopacz, M., Drażbo, A.A., Śmiecińska, K., **Ognik, K.** Performance and Egg Quality of Laying Hens Fed Diets Containing Raw, Hydrobarothermally-Treated and Fermented Rapeseed Cake. Animals 2021, 11, 3083. https:// doi.org/10.3390/ani11113083

Wykonanie analiz i udział w opracowaniu i interpretacji wyników w/w publikacji.

Łączny wkład: 10%

Katarzyna Ognik
.....
Podpis i data
10.07.2023

ANNALS OF ANIMAL SCIENCE
ISSN: 2300-8733, https://sciendo.com/journal/AOAS

ACCEPTED AUTHOR VERSION OF THE MANUSCRIPT:

The effect of raw, hydrobarothermally treated and fermented rapeseed cake on plasma biochemical parameters, total tract digestibility and gut function in laying hens

DOI: 10.2478/aoas-2023-0040

Magdalena Orlich[1], Aleksandra Drażbo[1♦], Katarzyna Ognik[2], Anna Rogiewicz[3], Jerzy Juśkiewicz[4]

[1]Department of Poultry Science and Apiculture, Faculty of Animal Bioengineering, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn, Poland
[2]Department of Biochemistry and Toxicology, Faculty of Biology, Animal Science and Bioeconomy, University of Life Sciences, Akademicka 13,20–950 Lublin, Poland
[3]Department of Animal Science, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba R3T 2N2, Canada
[4]Institute of Animal Reproduction and Food Research of the Polish Academy of Sciences, Tuwima 10, 10-748 Olsztyn, Poland

♦Corresponding author: aleksandra.drazbo@uwm.edu.pl

Received date: 4 October 2022
Accepted date: 5 April 2023

To cite this article: (2023). Orlich M., Drażbo A., Ognik K., Rogiewicz A., Juśkiewicz J. (2023). The effect of raw, hydrobarothermally treated and fermented rapeseed cake on plasma biochemical parameters, total tract digestibility and gut function in laying hens, Annals of Animal Science, DOI: 10.2478/aoas-2023-0040

This is unedited PDF of peer-reviewed and accepted manuscript. Copyediting, typesetting, and review of the manuscript may affect the content, so this provisional version can differ from the final version.

The effect of raw, hydrobarothermally treated and fermented rapeseed cake on plasma biochemical parameters, total tract digestibility and gut function in laying hens

Magdalena Orlich[1], Aleksandra Drażbo[1♦], Katarzyna Ognik[2], Anna Rogiewicz[3], Jerzy Juśkiewicz[4]

[1]Department of Poultry Science and Apiculture, Faculty of Animal Bioengineering, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn, Poland
[2]Department of Biochemistry and Toxicology, Faculty of Biology, Animal Science and Bioeconomy, University of Life Sciences, Akademicka 13,20–950 Lublin, Poland
[3]Department of Animal Science, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba R3T 2N2, Canada
[4]Institute of Animal Reproduction and Food Research of the Polish Academy of Sciences, Tuwima 10, 10-748 Olsztyn, Poland
♦Corresponding author: aleksandra.drazbo@uwm.edu.pl

Abbreviated title: Dietary treated rapeseed cake in laying hens
DOI: 10.2478/aoas-2023-0040
*Project financially supported by the Minister of Education and Science under the program entitled "Regional Initiative of Excellence" for the years 2019–2022, Project No. 010/RID/2018/19, amount of funding PLN 12 000 000.

Abstract

This study evaluated the effects of inclusion of raw, hydrobarothermally treated and fermented rapeseed cake (RRC, HRC and FRC, respectively) in diets fed to laying hens. Hydrobarothermal treatment decreased the hydroxyglucobrassicin and neoglucobrassicin content of rapeseed cake (RC), whereas fermentation significantly reduced the content of all glucosinolates (GLS) and phytate phosphorus (PP) concentration. Both HRC and FRC increased the serum concentrations of total protein (TP) and globulin (GLB), compared with group C. Group HRC hens had desirably lowest blood triacylglycerol (TAG) levels and aspartate aminotransferase (AST) activity. Group FRC hens were characterized by the lowest alkaline phosphatase (ALP) activity, and the highest concentrations of phosphorus (P) and triiodothyronine (T3). Regardless of its form, RC improved ether extract (EE) digestibility, and decreased dry matter (DM) digestibility and calcium (Ca) retention. In comparison with group C, RRC, HRC and FRC decreased cecal digesta weight and enhanced the activity of bacterial α-galactosidase and ß-galactosidase; HRC also increased ammonia concentration in the ceca and reduced β-xylosidase activity. The activity of α-glucosidase and α-arabinopiranosidase was highest, and the activity of bacterial β-glucuronidase was lowest in the ceca of group FRC hens. The cecal concentrations of acetic acid, propionic acid, and total short-chain fatty acids (SCFAs) were highest in birds fed a diet containing RRC and lowest in group HRC. In conclusion, RC fermentation considerably reduces the concentrations of GLS and PP. A diet containing 20% FRC is more recommended than diets containing RRC and HRC because it exerted a beneficial effect on metabolic parameters and intestinal function in laying hens.

Key words: laying hen, fermentation, hydrobarothermal treatment, digestibility, gastrointestinal tract

Due to a global shortage of high-protein feeds and an increase in their prices, alternative and unconventional feed components are increasingly used in the poultry industry. In recent years, rapeseed oil by-products, such as rapeseed meal and rapeseed cake (RC), have been fed to ruminants as well as monogastric animals, including laying hens. In comparison with rapeseed meal, RC has a higher concentration of metabolizable energy, and it contains up to 400 g/kg crude protein (CP) and high amounts of natural antioxidants (Smulikowska et al., 2006; Jakobsen et al., 2015; Kopacz et al., 2021). However, wider use of RC in poultry diets is limited due to the presence of high concentrations of antinutritional factors (ANFs) such as glucosinolates (GLS), phytic acid, sinapine, fiber and tannins (Chibowska et al., 2000; Kocher et al., 2000). Antinutritional factors, mostly non-starch polysaccharides (NSP), decrease the bioavailability of nutrients, in particular protein, energy, and phosphorus (P), which considerably reduces the efficacy of rapeseed products in poultry nutrition (Chiang et al., 2010; Drażbo et al., 2018; Yadav et al., 2022). A decrease in the digestibility of rapeseed protein may result from the binding of proteins to the components of dietary fiber and the presence of major proteins including cruciferin proteins that may resist proteolysis by physiological digestive enzymes (Recoules et al., 2019). Poultry do not express endogenous enzymes capable of digesting NSP. According to Jia et al. (2012), the total-tract digestibility of NSP from rapeseed meal is negligible in laying hens (2%), adult roosters (4%), and broiler chickens fed a corn−rapeseed meal diet (8%). High NSP levels in poultry diets may stimulate the proliferation and activity of gut microbiota, and increase the viscosity of small intestinal digesta, thus impairing the rate of food passage and nutrient utilization (Kocher et al., 2000; Zduńczyk et al., 2013).

Since GLS are the most toxic compounds found in rapeseeds, their content of poultry feeds should not exceed 2.5 μmol/g (Feng and Zuo, 2007; Yadav et al., 2022). They are resistant to heat treatment, but easily undergo enzymatic hydrolysis in the presence of myrosinase that destroys glycoside bonds and induces the generation of degradation products, including isothiocyanates. These compounds reduce feed intake, which compromises performance and disrupts homeostasis in birds (Drażbo et al., 2018). The presence of GLS in poultry diets decreases the secretion of thyroid hormones, increases the size of the thyroid gland, and disrupts the balance between thyroid hormones, triiodothyronine (T3) and thyroxine (T4) (Ahmadi, 2016). Endocrine disorders caused by GLS metabolites can compromise the growth rate and productivity of animals (Zhu et al., 2018). According to Tripathi and Mishra (2007), the negative impact of GLS is more pronounced in laying hens than in broiler chickens due to the longer rearing period in the former.

The nutritional value of rapeseed products can be improved by reducing the content of selected ANFs with the use of different methods such as solvent extraction, chemical degradation, enzyme hydrolysis and fermentation (Chabanon et al., 2007; Feng and Zuo, 2007;

Gąsiorek and Wilk, 2011). Hydrothermal processing contributes to decreasing ANF concentrations in poultry feed components, thus improving protein and amino acid digestibility, but its effectiveness varies depending on the type and intensity of the applied treatment (Zentek and Goodarzi-Boorojeni, 2020). However, very few studies have investigated the use of hydrobarothermally treated components in layer diets, particularly in view of their impact on gastrointestinal function. Sasyte et al. (2017) demonstrated that rapeseed feeds subjected to high pressure and high temperature can be incorporated into layer diets while maintaining high laying performance. According to Lichovníková et al. (2004), the extrusion of feed containing rapeseed has a positive effect on fat digestibility and nitrogen retention in laying hens.

Fermented feed ingredients have been widely used in poultry production in recent years. Previous experiments have revealed that fermented rapeseed meal can improve performance, serum biochemical parameters and intestinal morphology in broiler chickens and turkeys (Feng et al., 2007; Hu et al., 2016; Drażbo et al., 2018). According to Zhu et al. (2020), fermented feeds can improve the laying performance, antioxidant and immune status of layers. In addition, studies have shown that fermented diets have the potential to improve intestinal digestive function and morphology, and to modulate the gut microbial ecosystem in poultry (Hu et al., 2016; Drażbo et al., 2020; Lv et al., 2022). In a study by Elbaz (2021), fermented canola meal improved nutrient digestibility in broiler chickens, most likely due to the reduction of the pathogenic load (microbial modulation) in the gut, which positively affected nutrient absorption and increased the nutritional value of canola meal. Fermented feed components are usually characterized by higher counts of lactic acid bacteria, higher concentrations of selected short-chain fatty acids (SCFAs), and lower pH values, compared with raw components (Niba et al., 2009), which contributes to increasing the abundance of beneficial microorganisms that exert probiotic effects in the gastrointestinal tract (GIT) (Goodarzi-Boorojeni et al., 2018). Probiotic bacteria contained in fermented feeds can decrease intestinal pH by producing SCFAs, and inhibit gut colonization by pathogenic bacteria by secreting antibacterial substances (Sugiharto and Ranjitkar, 2019). As the main end products of fermentation, SCFAs stabilize the composition and function of the gut microbiome, and constitute an extra source of energy, which can slightly improve the growth performance of birds. Our previous study (Drażbo et al., 2020) has shown that the fermentation process improved the nutritional value of RC, and exerted beneficial effects on SCFA concentrations and the activities of bacterial glycolytic enzymes.

The development of beneficial gut microbiota in birds enables them to express their full genetic potential and, consequently, maximize productivity. Feeds characterized by high nutrient digestibility and bioavailability contribute to optimizing poultry production. During fermentation, microorganisms produce lactic acid that helps in the digestion of other protein-containing diets, and biosynthesize certain enzymes that are essential in the digestion process (Dahiya and Nigam, 2022). Thus, fermented feeds positively affect gut function and, consequently, the health status of poultry.

Previous research has demonstrated that hydrothermally treated and fermented feed components have positive effects on the gastrointestinal function and performance of slaughter poultry (Chiang et al., 2010; Ahmed et al., 2014; Drażbo et al., 2018). Our previous study has shown that hydrobarothermally treated and fermented RC can be valuable components of layer

diets because they do not compromise laying performance (Kopacz et al., 2021). However, as already mentioned, there is a general scarcity of published studies investigating the efficacy of processed RC in poultry, with particular emphasis on laying hens. Therefore, the aim of this study was to verify the hypothesis that hydrobarothermally treated and fermented RC, included in layer diets at 20%, have a beneficial effect on nutrient digestibility, blood biochemical parameters and gut function in birds.

Material and methods

Rapeseed cake

Locally produced RC was purchased from "Agrolok" in Golub Dobrzyn, Poland. Purified RC was ground in a roller mill to pass through a 3 mm sieve, and then conditioned at a temperature of 90–95°C and humidity of around 18%. In the next step, RC was processed in a hydrothermal reactor in the presence of steam at a temperature of 95–100°C for 15–20 min. The raw material was expanded at a temperature of 105–110°C under pressure of 40–60 atm, dried and cooled to the optimal storage temperature and humidity.

Rapeseed cake was fermented using a patent-pending (No. 422849) procedure described in detail by Drażbo et al. (2018). Briefly, a commercial 6-phytase enzyme preparation expressed by *Pichia pastoris* was used to ferment RC; it was added to RC at a weight ratio of 1:1000, and thoroughly mixed. Solid-state fermentation was conducted for 24 h at 30°C under anaerobic conditions. The enzyme was then deactivated at 70°C for 15 min. The fermented biomass was dried at 55°C.

Feed samples were analyzed in duplicate for the content of CP and ether extract (EE), according to AOAC (2007) methods 976.05, and 920.39, respectively. The content of calcium (Ca) and total P in feed was determined in duplicate by optical emission spectrometry with excitation in inductively coupled argon plasma in the Avio TM 200 Optical Emission Spectrometer (Perkin Elmer) after digestion in the microwave system (Titan MPS, Perkin Elmer). Non-starch polysaccharides in feed and rapeseed were determined by gas−liquid chromatography (constituent neutral sugars) using an SP-2340 column and a Varian CP3380 gas chromatograph (Varian Inc., Palo Alto, CA), and by colorimetry (uronic acids) using a Biochrom Ultrospec 50 (Biochrom Ltd., Cambridge, UK), according to the procedure described by Englyst and Cummings (1984, 1988) with modifications (Slominski and Campbell, 1990). Uronic acids were determined as described by Scott (1979). Glucosinolates were determined by gas−liquid chromatography as described by Slominski and Campbell (1987). Gross energy (GE) in rapeseed samples was determined with an adiabatic bomb calorimeter (KL 12Mn, Precyzja-Bit PPHU, Bydgoszcz, Poland) standardized with benzoic acid. Phytate-phosphorus (PP) was determined as described by Haug and Lantzsch (1983).

Birds, management, and diets

The experiment was conducted at the experimental poultry farm of the Department of Poultry Science and Apiculture, University of Warmia and Mazury in Olsztyn (Poland).

A total of 304 Hy-Line Brown laying hens aged 36 wk, obtained from a local commercial flock, were weighed individually and randomly assigned to four treatment groups.

Each treatment consisted of 76 laying hens that were placed in Big Dutchman double-sided, three-tier battery cages (40 x 35 x 60 cm, with a floor slope of 12°) with two hens per cage (38 replicates per treatment and 2 hens per replicate). Different treatment groups were equally distributed between upper, middle, and lower tiers to minimize the cage-level effect. Hens were kept in a windowless house, under strictly controlled environmental conditions. The light cycle was set at 16 h of continuous light and 8 h of darkness, and room temperature of 20–22°C was maintained. Each cage was equipped with an automatic nipple drinker and a metal feed trough which was divided by replicate to ensure that hens were not able to consume feed assigned to the adjoining replicate. A wire egg collector was installed in the front of each cage to prevent the mixing of eggs from separate replicates. At 35 wk of age, laying hens underwent an adaptation period during which they were fed commercial diets formulated in accordance with the recommendations of Hy-Line (2018). The trial started when the hens were aged 36 wk, and it lasted for 12 weeks (until 48 wk of age).

Laying hens were fed diets whose composition and calculated nutritional value are given in Table 1. Isonitrogenous and isocaloric diets in mash form contained similar concentrations of amino acids, including arginine and lysine, and similar levels of minerals, including Ca and available P. The diets differed in the source of protein. In the control group (C), soybean meal (SBM) was the main source of dietary protein, whereas experimental groups were fed diets containing 20% raw (RRC), hydrobarothermally treated (HRC) or fermented rapeseed cake (FRC). The diets were prepared in the "Agrocentrum" feed meal in Kałęczyn (Poland). All diets were formulated to meet the nutrient requirements of laying hens (Smulikowska and Rutkowski, 2018). Experimental diets and water were provided *ad libitum* throughout the 12-wk study.

Digestibility trial

After six wk of experimental feeding, eight hens in battery cages were selected randomly from each treatment. For the determination of total tract nutrient digestibility and retention coefficients (DM, EE, nitrogen-N, Ca, and P), as well as dietary AMEn values, TiO_2 was added to each of the experimental diets, as an indigestible dietary marker at a final concentration of 3.0 g of TiO_2/kg of diet. Each cage was equipped with excreta collection trays. During a five-d collection period, excreta from each cage were collected twice daily (at 12-h intervals), and were stored in plastic bags at –20°C. Excreta collected per cage during a four-d collection period were pooled and represented one replicate (8 replicates per treatment). The remaining feed in excreta trays was carefully removed and weighed. After the collection period, excreta samples were freeze-dried for further analyses.

The following formula was used to calculate total tract apparent digestibility coefficients and the percentage retention of nutrients:

Digestibility = [1-(TiO_2 diet /TiO_2 excreta) x (excreta nutrient content/ dietary nutrient content)]*100

The AMEn of experimental diets was calculated using the following formula:

AMEn (MJ/kg) = GE diet – [GE excreta x (TiO_2 diet/TiO_2 excreta)] -0.0344 x {N diet - [N excreta x (TiO_2 diet/TiO_2 excreta)]}, where GE is gross energy, N is nitrogen and TiO_2 is titanium dioxide. AMEn value was corrected to a zero-nitrogen balance using the conversion

factor of 0.0344 MJ/kg N retained (Hill and Anderson 1958). Calculations were performed separately for each replicate.

Sample collection

At the end of the trial, nine birds from each treatment were randomly selected, weighed, and sacrificed in the Department's slaughterhouse. The birds were electrically stunned (400 mA; 350 Hz), hung on a shackle line, and exsanguinated by a unilateral neck-cut severing the right carotid artery and the jugular vein. During the exsanguination, blood was drawn for analysis. Segments of the digestive tract (small intestine and ceca) were removed, emptied, and weighed; digesta samples were collected, the ceca were flushed with water, blotted on filter paper, and weighed. The ileum was defined as the segment from Meckel's diverticulum to the ileo-cecal junction. After euthanasia (approx. 20 min), pH was measured in the digesta collected from each segment using a microelectrode and a pH-ion meter (model 301, Hanna Instruments, Vila do Conde, Portugal). The collected intestinal content samples were used for analysis of DM and ammonia and, in the ceca, also SCFAs. The remaining portion of the cecal digesta was transferred to test tubes and stored at –70°C until needed.

Biochemical analysis of blood

Immediately after collection, blood samples were aliquoted into test tubes containing heparin and EDTA as anticoagulants. Next, the samples were centrifuged at 3,000 g for 10 min and plasma was collected for further analysis. The obtained plasma was stored at –20◦C until analysis. The content of total protein (TP), albumin (ALB), globulin (GLB), total cholesterol (TC), triacylglycerols (TAG), bilirubin (BIL), urea (UREA), uric acid (UA), creatinine (CREAT), and the activity of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH) and gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) were measured in blood plasma using an automated biochemistry analyzer (Plasma Diagnostic Instruments, Horiba, Kyoto, Japan). The concentrations of Ca, P, magnesium (Mg), zinc (Zn), copper (Cu) and iron (Fe) in the blood plasma of hens were determined by flame atomic absorption spectrometry (AAS) on a UNICAM 939 spectrometer. The serum concentrations of T3 and T4 were determined by the radioimmunoassay using a diagnostic kit (Roche Diagnostics Gmbh, Mannheim, Germany) and the Elecsys 1010 analyzer (Instrument Center AG, Rotkreuz, Switzerland).

Analysis of gastrointestinal parameters

As soon as possible after euthanasia (approx. 5 min), the pH of the ileum and ceca was measured directly in the organs' contents using a microelectrode and a pH/ION meter (model 301, Hanna Instruments, Vila do Conde, Portugal). The DM content of the samples (ileal, cecal) was determined at 105°C. Samples of ileal digesta were collected, vortexed and centrifuged at 7211 g for 10 min. The supernatant fraction (0.5 mL) was placed in the Brookfield LVDV-II+ cone-plate rotational viscometer (CP40; Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton, MA, USA), and viscosity was measured at a constant temperature of 397°C and a shear rate of 60/s. Viscosity was recorded as apparent viscosity. Ammonia was extracted from fresh cecal digesta,

trapped in a solution of boric acid in Conway dishes, and determined by direct titration with sulfuric acid (Hofírek and Haas, 2001).

The extracellular activity of selected cecal bacterial enzymes (α- and β-glucosidase, α- and β-galactosidase, β-glucuronidase, α-arabinopyranosidase, and β-xylosidase) released from bacterial cells into the intestinal digesta was measured with the use of the respective nitrophenylglucosides (Juśkiewicz and Zduńczyk, 2002). After incubation (39°C) of the substrate and digesta solutions in 100 mM phosphate buffer (pH 7.0), p-nitrophenol and o-nitrophenol concentrations were quantified at 400 nm and 420 nm, respectively. Enzyme activity was expressed as μmol of the product formed per h per g of digesta.

Short-chain fatty acids were analyzed by gas chromatography (Shimadzu GC-2010, Kyoto, Japan) using a capillary column (SGE, BP21, 30 m × 0.53 mm, SGE Europe Ltd., Kiln Farm Milton Keynes, UK). Digesta samples (0.2 g) were mixed with 0.2 mL of formic acid, diluted with deionized water, and centrifuged at 7211 g for 10 min. The supernatant was loaded onto a capillary column (SGEBP21, 30 m × 0.53 mm) using an on-column injector.

Statistical analysis

For performance and digestibility data, a cage was considered as a replicate unit for the statistical analysis. For analyses of blood biochemical parameters and physiological parameters of the GIT, individual birds were considered as experimental units. One-way analysis of variance (ANOVA) was performed with the use of Statistica 13.1 software (StatSoft, Krakow, Poland). When a significant treatment effect was noted, the post-hoc Tukey test was used to determine differences between treatment groups. The effects were considered significant at $P \leq 0.05$, and were expressed as mean values with a pooled SE.

Results

The effect of hydrobarothermal treatment and fermentation on the nutrient content of RC was partially described in our previous study (Kopacz et al., 2021), which demonstrated that the content of essential nutrients in RC was not affected by hydrobarothermal treatment or fermentation. However, the present study revealed that the applied processing methods affected the content of ANFs in RC. The concentrations of two GLS, hydroxyglucobrassicin and neoglucobrassicin, were slightly lower in HRC than in RRC (0.86% vs. 2.10%, and 0.12% vs. 0.27%, respectively), but fermentation had the greatest influence on the ANF content of RC (Table 2). In comparison with RRC, FRC had a two-fold lower PP content (0.833% vs. 1.607%), whereas total GLS concentration decreased many-fold (0.92% vs. 15.35%), and progoitrin content was more than 20 times lower in FRC than in RRC (0.43% vs. 8.87%). A minor increase in total NSP concentration, noted in FRC, resulted mostly from the fact that glucose concentration was around 30% higher in FRC than in RRC and HRC.

The blood biochemical parameters of laying hens are summarized in Table 3. In comparison with group C, a decrease in AST activity was noted in the blood plasma of laying hens from groups RRC, HRC and FRC (P = 0.001). Higher levels of TP and GLB (P=0.001 in both cases) and lower levels of CREAT (P=0.001) were found in the plasma of HRC and FRC hens, relative to group C. In comparison with group C, FRC increased the plasma levels of ALB (P=0.004), TAG (P=0.038), T3 (P=0.001) and P (P=0.005), but decreased ALP activity

(P=0.001). The plasma levels of TAG (P=0.038) and Fe (P=0.034) were lower in group HRC than in group C. The highest plasma BIL concentration (P = 0.026) and the lowest Ca content were noted in group RRC (P=0.001).

Relative to group C, RRC, HRC and FRC significantly decreased DM digestibility (P=0.002) and Ca retention (P=0.001), and increased EE digestibility (P=0.001). Diet HRC reduced P retention (P = 0.027), compared with group C (Table 4).

The physicochemical properties of ileal and cecal digesta in laying hens are presented in Table 5. The dietary intervention with HRC led to a significant decrease in relative cecal tissue weight, compared with group C (P=0.026). The relative weight of cecal digesta decreased in response to the dietary application of all three rapeseed products (RRC, HRC, FCR vs. C, P=0.001). The lowest pH of cecal digesta was noted in group RRC (P<0.05 vs. the remaining treatments). Cecal ammonia concentration was significantly higher in birds receiving HRC (P<0.05 vs. C and RRC). The dietary inclusion of HRC and FRC induced a significant increase in cecal DM concentration (P<0.05 vs. C).

The activity of selected microbial enzymes in the cecal digesta is shown in Table 6. Only ß-glucosidase was not affected by the applied dietary treatments. The dietary inclusion of FRC significantly increased the extracellular activity of bacterial α-glucosidase and α-arabinopyranosidase, relative to the remaining groups (P<0.05 in both cases). The three analyzed rapeseed products added to layer diets caused a significant increase in bacterial α-galactosidase activity, compared with group C (P<0.05 vs C), and its activity was highest in the ceca of HRC birds (P<0.05 vs. C and FRC). The extracellular activity of bacterial β-galactosidase in the cecal digesta was enhanced by RRC and HRC treatments in comparison with the C treatment (P<0.05). The lowest activity of cecal bacterial β-glucuronidase was noted in group FRC (P<0.05 vs. RRC). The HRC and FRC treatments resulted in the lowest activity of cecal bacterial β-xylosidase (P<0.05 vs. C). The cecal concentrations of acetic acid and total SCFAs were highest in birds fed a diet containing RRC (P<0.05 vs. HRC and FRC), and lowest in group HRC (P<0.05 vs. C and RRC). The concentration of propionic acid in the cecal digesta was highest in group RRC (P<0.05 vs. HRC). The ceca of birds fed a diet containing HRC were characterized by a lower concentration of butyric acid, compared with groups C and RRC (P<0.05). No changes were found in the SCFA profile in the cecal digesta of laying hens; acetic acid predominated, followed by propionic and butyric acids.

Discussion

Improved laying performance is the main determinant of production intensification and efficiency. Various by-products, including the by-products of rapeseed oil processing, are increasingly used in poultry nutrition worldwide. However, the utilization of RC is limited due to the presence of high amounts of ANFs. The effects of fermentation as well as high-pressure and high-temperature treatment on the chemical composition and nutritional value of poultry feed components have been extensively researched (Fenwick et al., 1986; Naji et al., 2016; Zentek and Goodarzi Boorojeni; 2020; Lv et al., 2022). The present study revealed that fermentation contributed to a considerably greater decrease in ANF concentration in RC than hydrobarothermal treatment. Fermentation significantly decreased the concentrations of PP and, in particular, GLS in RC. This is an important consideration since GLS may exert adverse

health effects, including impairment of liver and kidney function or hypothyroidism in birds (Fu et al., 2021). A decrease in the concentration of progoitrin is particularly important since the product of its degradation – goitrin can impair iodine metabolism in the body, leading to the deregulation of thyroid peroxidase and an enlargement of the thyroid gland (Keum et al., 2004). The beneficial influence of fermentation on the nutritional value of RC has been discussed in our previous articles (Drażbo et al., 2018; Kopacz et al., 2021)

This study demonstrated that the inclusion of HRC or FRC in the diets of laying hens decreased the plasma levels of TP and CREAT, but increased GLB. In addition, increased plasma ALB concentration was noted in group FRC. Stahly et al. (1994) reported that body protein anabolism was related to the serum levels of TP and ALB, which showed a positive correlation and reflected an improvement in protein deposition in tissues. The results of the present study indicate that layer diets with 20% RC, especially HRC and FRC, have a beneficial effect on protein metabolism without putting a burden on the liver, as evidenced by reduced activity of AST and, when FRC is used, of both AST and ALP. In a study by Xu et al. (2011), the replacement of SBM with fermented rapeseed meal had no effect on total serum protein in broiler chickens. As reported by Straková et al. (2021), high AST may indicate liver damage. According to Thompson and Todd (1994), serum AST activity begins to rise during the pre-hemolytic period. In the present study, ALP activity was desirably lowest in group FRC. It appears that RC fermentation increased its content of lactic acid bacteria, and probiotics can decrease the activity of liver enzymes (Tang et al., 2017). Surprisingly, TG concentration undesirably increased in group FRC. In our previous study (Drażbo et al., 2018) and in the experiment performed by Hu et al. (2016) on broilers, FRC included in the diet at 15% and 9.41%, respectively, decreased TG levels. Therefore, it cannot be excluded that the dietary inclusion of 20% RRC or FRC may impair lipid metabolism in laying hens. However, the use of 20% RC that had been subjected to hydrobarothermal treatment will have no adverse effect on lipid metabolism.

Laying hens fed a diet with 20% FRC were characterized by the highest blood concentrations of Ca and P, which could result from the increased content of bioavailable Ca and P in FRC (Fazhi et al., 2011). According to Czech et al. (2020), microbial phytase produced during fermentation increases the bioavailability of the above minerals, thus supporting the process of bone formation. Phytic acid present in rapeseeds is known to decrease the bioavailability of both P and Ca (Summers et al., 1988), therefore the reduced concentration of PP in RC, noted in this study, could contribute to increasing the blood levels of both minerals in laying hens.

As already mentioned, high amounts of GLS and their degradation products in poultry feed can impair thyroid function. According to the European Food Safety Authority (2008), isothiocyanates, thiocyanate ions and oxazolidinones, including goitrin (5-vinyloxazolidine-2-thione), inhibit iodine uptake and disrupt the biosynthesis of thyroid hormones (T3 and T4), leading to hypothyroidism and an enlargement of the thyroid gland. Changes in thyroid function are responsible for numerous clinical symptoms in birds, such as growth inhibition or reproductive disorders. In the current experiment, neither the form nor inclusion level of RC in layer diets significantly affected plasma T4 concentration, and the highest T4 and T3 levels were noted in group FRC. According to Xu et al. (2011), elevated T3 concentrations are

associated with a lower content of isothiocyanates in feed, which was confirmed by an analysis of the chemical composition of rapeseed products in this study.

Irrespective of its form, RC included in layer diets decreased DM digestibility and Ca retention. Interestingly, EE digestibility improved significantly in all experimental groups. According to Zhu et al. (2019), reduced nutrient digestibility may be related to the relatively high fiber content of feed components, which due to its physiochemical properties limits the amount of time available for nutrient breakdown. In addition, isothiocyanates are pungent to the intestinal tract, and they can decrease intestinal villus height, which can drive the adverse effects of rapeseed meal on nutrient digestibility. In the present study, fermentation drastically decreased GLS concentration in RC, but none of the technological processes affected NSP content. It appears that neither hydrobarothermal treatment nor fermentation improved the digestibility of nutrients from RC. Interestingly, P retention was lowest in hens fed HRC, which is difficult to explain and requires further research.

Regardless of its form, RC incorporated into layer diets decreased cecal digesta weight. This parameter is significantly affected by various factors related to small and large intestine function, such as digesta hydration, composition, and viscosity. The viscosity of small intestinal digesta did not change significantly in response to the applied dietary treatments, but it was lower in experimental groups and could promote digesta passage through the upper GIT. Digesta accumulation in the ceca was not determined by hydrobarothermal treatment or fermentation, but it was affected by the type and origin of fiber fractions, including NSP. All rapeseed products reduced digesta accumulation in the ceca. The applied technological processes did not change the quantities of fiber fractions, but they probably affected NSP structure in HRC and FRC, which could have a positive influence on the metabolic activity of microbiota and the intensity of fermentation. Decreased amounts of cecal digesta could also result from the presence of polyphenols in RC, which modulate the transit time of digesta to the lower GIT (Di Carlo et al., 1993). The above processes affect nutrient digestibility. In the current experiment, nutrient digestibility and retention were determined by the dietary inclusion of RC rather than by the applied technological processes. Only P retention decreased significantly in group HRC. It should be noted that the pH of small intestinal digesta did not change in experimental groups, relative to the control group. In case of undesirable bacterial overgrowth, digesta pH may decrease already in the upper GIT, disrupting digestion and absorption in these segments. It is well known that the more acidic environment of the large intestine supports the proliferation of beneficial bacterial species, and positively affects the health status of the final section of the GIT (Zduńczyk et al., 2013). In the present study, the significantly lowest pH value was noted in the ceca of hens fed RRC, whereas higher pH values in groups HRC and FRC were most likely related to the concentrations of ammonia and SCFAs in the cecal digesta. However, the acidity of cecal digesta is determined by numerous factors, including not only ammonia and SCFA concentrations but also the basic buffering capacity of intestinal digesta. It should be stressed that increased ammonia concentration in the cecal digesta of hens fed HRC was not detrimental to the intestinal mucosa. Nevertheless, ammonia levels should be monitored carefully in future experiments involving the use of HRC as a dietary component. The balance between ammonia production and absorption by microbiota and intestinal epithelial cells is crucial for maintaining healthy metabolism and morphology of

the intestinal epithelial layer. In the current study, diets containing RC had a significant effect on the extracellular activity of bacterial enzymes and SCFA concentrations. In general, the activity of bacterial enzymes (excluding β-xylosidase) increased in the ceca of hens in all experimental groups, but the rate of fermentation processes increased only in group RRC. The concentrations of acetic acid, propionic acid, butyric acid and total SCFAs were significantly higher in group RRC than in groups HRC and FRC. Differences in the activity of the analyzed enzymes in RC groups may point to the significant effects of the applied technological processes on the structure of RC, and its bioavailability and accessibility to the bacterial enzymatic apparatus. For instance, enhanced activity of bacterial α-glucosidase and α-arabinopyranosidase in hens fed FRC points to the increased digestion capacity of resistant starch as well as soluble and insoluble fiber fractions (cellulose, NSP, e.g. arabinians). Strychalski et al. (2014) observed a significant increase in the extracellular activity of bacterial α-arabinopyranosidase in the cecum of rabbits fed a diet enriched with 5% RC as compared with those fed an SBM-based diet. According to the cited authors, this is due to the fact that high-molecular-weight polysaccharides (i.e. arabinans, arabinogalactans and pectic polysaccharides) are present in smaller quantities in SBM than in RC. The inclusion of FRC in layer diets significantly increased the activity of bacterial α-glucosidase and α-arabinopyranosidase, but it had no effect on the rate of fermentation processes, and the cecal concentrations of total and major SCFAs were lower in this group than in groups C and RRC. It should be noted that the cecal concentrations of SCFAs are the outcome of their production by gut microbiota and the rate of their absorption from the intestinal lumen to epithelial cells, and then to tissues and internal organs. It cannot be excluded that fermented fiber fractions were partially utilized in the small intestine, and the amount of substrates susceptible to microbial fermentation that reached the ceca was lower. Decreased cecal concentrations of SCFAs in groups HRC and FRC considerably affected the acidification of digesta. The activity of β-glucuronidase was lowest in group FRC. The activity of this enzyme is an indicator of adverse changes in the gut microbiota because it increases with increasing counts of *E. coli* and *Clostridium* (Beaud et al., 2005). Decreased activity of β-glucuronidase may be indicative of reduced *E. coli* and *Clostridium* populations, and a lower risk of glucuronide hydrolysis in the intestinal lumen, which generates toxic and carcinogenic substances from nontoxic glycosides. The positive effect of FRC on β-glucuronidase activity can be attributed to higher counts of lactic acid bacteria in FCR, which can reduce the activity of this enzyme (De Moreno de LeBlanc and Perdigo, 2005).

Short-chain fatty acids are an important energy source for the intestinal epithelium, and their concentrations are a robust indicator of intestinal physiology. A particularly important role is played by lactic acid as a source of energy for enterocyte growth and the proliferation of intestinal epithelial cells, regulation of mucin production, maintenance of immune function and protection of the gut environment against pathogen colonization (Antonissen et al., 2016). In the present study, RRC and FRC exerted more beneficial effects than HRC because they had no negative influence on butyric acid concentration in the cecal digesta. The concentrations of SCFAs change because dietary substrates, including protein and NSP, which are partially digested and absorbed in the small intestine, accumulate in the distal intestinal segments. Protein, including resistant dietary protein, microbial protein and protein that escaped digestion,

synthesized by the host, may reach the ceca and be taken up by protein-fermenting bacteria. As a result, higher concentrations of branched SCFAs may be produced, pointing to unfavorable conditions in the ceca (Konieczka et al., 2021). In the current study, the concentrations of isovaleric and valeric acids as well as total putrefactive SCFAs did not change, which indicates that RC diets did not decrease protein utilization by laying hens and did not induce the excessive bypass of protein for putrefaction, which could potentially be used by bacteria to release end products considered harmful to the host (Apajalahti and Vienola, 2016).

Conclusions

In comparison with hydrobarothermal treatment, fermentation had a more beneficial influence on the nutritional value of RC, because it contributed to a greater decrease in GLS and PP concentrations. In comparison with RRC and HRC, a layer diet containing 20% FRC desirably increased plasma Ca and P levels, laying rate and protein metabolism rate, but it did not improve nutrient digestibility. Diets containing RRC, HRC and FRC significantly affected the activity of glycolytic enzymes in the gut, compared with the control diet. The most beneficial effect was exerted by diet FRC, which enhanced the activity of α-glucosidase and α-arabinopiranosidase, and reduced β-glucuronidase activity while maintaining SCFA concentrations at a level comparable with that in group C (SBM-based diet). Therefore, fermentation represents an interesting approach to increasing the efficacy of RC in laying hen nutrition.

References

Ahmadi M. (2016). The effect of different levels of rapeseed meal with and without enzyme on the performance and the serum level of triiodothyronine (T3), thyroxine (T4) and thyroid stimulating hormone (TSH) in broiler chickens. Iran. J. Appl. Anim. Sci., 6: 203–209.

Ahmed A., Zulkifli I., Farjam A.S., Abdullah N., Liang J.B. (2014). Extrusion enhances metabolizable energy and ileal amino acids digestibility of canola meal for broiler chickens. Ital. J. Anim. Sci., 13: 3032.

Antonissen G., Eeckhaut V., Van Driessche K., Onrust L., Haesebrouck F., Ducatelle R., Moore R.J., Van Immerseel F. (2016). Microbial shifts associated with necrotic enteritis. Avian Pathol., 45: 308–312.

AOAC (2007). Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, USA.

Apajalahti J., Vienola K. (2016). Interaction between chicken intestinal microbiota and protein digestion. Anim. Feed Sci. Technol., 221: 323–330.

Beaud D., Tailliez P., Anba-Mondolon J. (2005). Genetic characterization of the glucuronidase enzyme from a human intestinal bacterium, Ruminococcus gnavus. Microbiology, 151: 2323–2330.

Chabanon G., Chevalot I., Framboisier X., Chenu S., Marc I. (2007). Hydrolysis of rapeseed protein isolates: Kinetics, characterization and functional properties of hydrolysates. Process Biochem., 42: 1419–1428.

Chiang L., 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-Aust. J. Anim. Sci., 23: 263–271.

Chibowska M., Smulikowska S., Pastuszewska B. (2000). Metabolisable energy value of rapeseed meal and its fractions for chickens as affected by oil and fibre content. J. Anim. Feed Sci., 9: 371–378.

Czech A., Grela E.R., Kiesz M., Kłys S. (2020). Biochemical and haematological blood parameters of sows and piglets fed a diet with a dried fermented rapeseed meal. Ann. Anim. Sci., 20: 535–550.

Dahiya D., Nigam P.S. (2022). Probiotics, prebiotics, synbiotics, and fermented foods as potential biotics in nutrition improving health via Microbiome-Gut-Brain axis. Ferment, 8: 303.

De Moreno de LeBlanc A., Perdigo G. (2005). Reduction of glucuronidase and nitroreductase activity by yoghurt in a murine colon cancer model. Biocell, 29: 15–24.

Di Carlo G., Autore G., Izzo A.A., Maiolino P., Mascolo N., Viola P., Diurno M.V., Capasso F. (1993). Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationships J. Pharm. Pharmacol., 45: 1054–1059.

Drażbo 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 Sci., 97: 3910–3920.

Drażbo A., Juśkiewicz J., Józefiak A., Konieczka P. (2020). The fermentation process improves the nutritional value of rapeseed cake for turkeys – effects on performance, gut bacterial population and its fermentative activity. Animals, 10: 1711.

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.

Englyst H.N., Cummings J.H. (1988). Improved method for the determination of dietary fiber as non-starch polysaccharidesin plant foods. J. AOAC Int., 71: 808–814.

Elbaz A.M. (2021). Effects of diet containing fermented canola meal on performance, blood parameters, and gut health of broiler chickens. J. World Poult. Res., 11: 01–07.

European Food Safety Authority (2008). Glucosinolates as undesirable substances in animal feed. EFSA J., 590: 1–76.

Fazhi X., Lvmu L., Jiaping X., Kun Q., Zhide Z., Zhangyi L. (2011). Effects of fermented rapeseed meal on growth performance and serum parameters in ducks. Asian-Aust. J. Anim. Sci., 24: 678–684.

Feng D., Zuo J. (2007). Nutritional and anti-nutritional composition of rapeseed meal and its utilization as a feed ingredient for animal. Proc. 12th International Rapeseed Congress, Wuhan, China, pp. 265–270.

Feng J., Liu X., Liu Y.Y., Xu Z.R., Lu Y.P. (2007). Effects of *Aspergillus oryzae* 3.042 fermented soybean meal on growth performance and plasma biochemical parameters in broilers. Anim. Feed Sci. Technol., 134: 235–242.

Fenwick G.R., Spinks E.A., Wilkinson A.P., Heany R.K., Legoy M.A. (1986). Effect of processing on the antinutrient content of rape seed. J. Sci. Food Agric., 37: 735–741.

Fu Z., Su G., Yang H., Sun Q., Zhong T., Wang Z. (2021). Effects of dietary rapeseed meal on growth performance, carcass traits, serum parameters, and intestinal development of geese. Animals, 11: 1488.

Gąsiorek, E., Wilk M. (2011). Possibilities of utilizing the solid by-products of biodiesel production – a review. Pol. J. Chem. Technol., 13: 58–62.

Goodarzi Boroojeni F., Kozłowski K., Jankowski J., Senz M., Wisniewska M., Boros D., Drażbo A., Zentek J. (2018). Fermentation and enzymatic treatment of pea for turkey nutrition. Anim. Feed Sci. Technol., 237: 78–88.

Haug W., Lantzsch H.J. (1983). Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. J. Sci. Food Agric., 34: 1423–1426.

Hill F.N., Anderson D.L. (1958). Comparison of metabolizable energy and productive energy determinations with determinations with growing chicks. J. Nutr., 64: 587–603.

Hofirek B., Haas D. (2001). Comparative studies of ruminal fluid collected by oral tube or by puncture of the caudorental ruminal sac. Acta Vet. Brno., 70: 27–33.

Hu Y., Wang Y., Li A., Wang Z., Zhang X., Yun T., Qiu L., Yin Y. (2016). Effects of fermented rapeseed meal on antioxidant functions, serum biochemical parameters and intestinal morphology in broilers. Food Agric. Immunol., 27: 182–193.

Hy-Line Brown Commercial Layers. 2018. Management Guide. Accessed Jan. 2019. https://www.hyline.com.

Jakobsen G.V., Jensen B.B., Knudsen K.E.B., Canibe N. (2015). Improving the nutritional value of rapeseed cake and wheat dried distillers grains with soluble by addition of enzymes during liquid fermentation. Anim. Feed Sci. Technol., 208: 198–213.

Jia W., Mikulski D., Rogiewicz A., Zduńczyk Z., Jankowski J., Slominski B.A. (2012). Low-fiber canola. Part 2. Nutritive value of the meal. J. Agric. Food Chem., 60: 12231–12237.

Juśkiewicz J., Zduńczyk Z. (2002). Lactulose-induced diarrhoea in rats: effects on caecal development and activities of microbial enzymes. Comp. Biochem. Phys. A., 133: 411–417.

Keum Y.S., Jeong W.S., Kong A.N. (2004). Chemoprevention by isothiocyanates and their underlying molecular signaling mechanisms. Mutat. Res., 555: 191–202.

Kocher A., Choct M., Porter M.., Broz J. (2000). The effects of enzyme addition to broiler diets containing high concentrations of canola or sunflower meal. Poultry Sci., 79: 1767–1774.

Konieczka P., Mikulski D., Ognik K., Juśkiewicz J., Zduńczyk Z., Jankowski J. (2021). Increased dietary inclusion levels of lysine are more effective than arginine in supporting the functional status of the gut in growing turkeys. Animals, 11: 2351.

Kopacz M., Drażbo A., Śmiecińska K., Ognik K. (2021). Performance and egg quality of laying hens fed diets containing raw, hydrobarothermally-treated and fermented rapeseed cake. Animals, 11: 3083.

Lichovníková M., Zeman L., Kracmar S., Klecker D. (2004). The effect of the extrusion process on the digestibility of feed given to laying hens. Anim. Feed Sci. Technol., 116: 313–318.

Lv J., Guo L., Chen B., Hao K., Ma H., Liu Y., Min Y. (2022). Effects of different probiotic fermented feeds on production performance and intestinal health of laying hens. Poultry Sci., 101: 101570.

Naji S.A., Al-Zamili I.F., Hassan B., Jawad A.S., Al-Gharawi J.K.M. (2016). The effect of fermented feed on broiler production and intestinal morphology. Pertanika J. Trop. Agric. Sci., 39: 97–607.

Niba A.T., Beal J.D., Kudi A.C., Brooks P.H. (2009). Potential of bacterial fermentation as a biosafe method of improving feeds for pigs and poultry. Afr. J. Biotechnol., 8: 1758–1767.

Recoules E., Lessire M., Labas V., Duclos M.J., Combes-Soia L., Lardic L., Peyronnet C., Quinsac A., Narcy A., Réhault-Godbert S. (2019). Digestion dynamics in broilers fed rapeseed meal. Sci. Rep., 9: 3052.

Sasyte V., Grashorn M.A., Klementaviciute J., Viliene V., Raceviciute-Stupeliene A., Gruzauskas R., Dauksiene A., Alijosius S. (2017). Effect of extruded full-fat rapeseed on egg quality in laying hens. Europ. Poult. Sci., 81.

Scott R.W. (1979). Colorimetric determination of hexuronic acids in plant materials. Anal. Chem., 51: 936–941.

Slominski B.A., Campbell L.D. (1987). Gas chromatographic determination of indole glucosinolates-a re-examination. J. Sci. Food Agric., 40: 131–143.

Slominski B.A., Campbell L.D. (1990). Non-starch polysaccharides of canola meal: Quantification, digestibility in poultry and potential benefit of dietary enzyme supplementation. J. Sci. Food Agric., 53: 175–184.

Smulikowska S., Rutkowski A. (2018). Editors. Recommended allowances and nutritive value of feedstuffs. In: Poultry feeding standards, 5th ed. (in Polish). The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, PAS, Jablonna, Poland.

Smulikowska S., Czerwiński J., Mieczkowska A. (2006). Nutritional value of rapeseed expeller cake for broilers: Effect of dry extrusion. J. Anim. Feed Sci., 15: 447–455.

Stahly T.S., Williams N.H., Zimmerman D.R. (1994). Impact of carbide on rate, efficiency and composition of growth in pigs with a low and high level of immune system activation. J. Anim. Sci., 72: 165–174.

Straková E., Všetičková L., Kutlvašr M., Timová I., Suchý P. (2021). Beneficial effects of substituting soybean meal for white lupin (*Lupinus albus*, cv. *Zulika*) meal on the biochemical blood parameters of laying hens. Ital. J. Anim. Sci., 20: 352–358.

Strychalski J., Juśkiewicz J., Gugołek A., Wyczling P., Daszkiewicz T., Zwoliński C. (2014). Usability of rapeseed cake and wheat-dried distillers' grains with solubles in the feeding of growing Californian rabbits. Arch. Anim. Nutr., 68: 227–244.

Sugiharto S., Ranjitkar S. (2019). Recent advances in fermented feeds towards improved broiler chicken performance, gastrointestinal tract microecology and immune responses: A review. Anim. Nutr., 5: 1–10.

Summers J.D., Spratt D., Leeson S. (1988). Utilization of calcium in canola meal supplemented laying diets. Can. J. Anim. Sci., 68: 1315–1317.

Tang S.G.H., Sieo C.C., Ramasamy K., Saad W.Z., Wong H.E., Ho Y.W. (2017). Performance, biochemical and haematological responses, and relative organ weights of laying hens fed diets supplemented with prebiotic, probiotic and synbiotic. BMC Vet. Res., 13: 248.

Thompson R.H., Tood J. (1994). Muscle damage in chronic copper poisoning of sheep. Res. Vet. Sci., 16: 97–102.

Tripathi M.K., Mishra A.S. (2007). Glucosinolates in animal nutrition: a review. Anim. Feed Sci. Technol., 132: 1–27.

Xu F., Li L., Xu J., Qian K., Zhang Z., Liang Z. (2011). Effects of fermented rapeseed meal on growth performance and serum parameters in ducks. Asian-Aust. J. Anim. Sci., 24: 678–684.

Yadav S., Teng P.Y., Choi J., Singh A.K., Vaddu S., Thippareddi H., Kim W.K. (2022). Influence of rapeseed, canola meal and glycosylate metabolite (AITC) as potential antimicrobials: effects on growth performance, and gut health in *Salmonella Typhimurium* challenged broiler chickens. Poultry Sci., 101: 101551.

Zduńczyk Z., Jankowski J., Juśkiewicz J., Mikulski D., Slominski B.A. (2013). Effect of different dietary levels of low-glucosinolate rapeseed (canola) meal and non-starch polysaccharide-degrading enzymes on growth performance and gut physiology of growing turkeys. Can. J. Anim. Sci., 93: 353–362.

Zentek J., Goodarzi Boroojeni F. (2020). (Bio)Technological processing of poultry and pig feed: Impact on the composition, digestibility, anti-nutritional factors and hygiene. Anim. Feed Sci. Technol., 268: 114576.

Zhu L.P., Wang J.P., Ding X.M., Bai S.P., Zeng Q.F., Su Z.W., Xuan Y., Zhang K.Y. (2018). The deposition and elimination of glucosinolate metabolites derived from rapeseed meal in eggs of laying hens. J. Agric. Food Chem., 66: 1560–1568.

Zhu L.P., Wang J.P., Ding X.M., Bai S.P., Zeng Q.F., Su Z.W., Xuan Y., Applegate T.J., Zhang K.Y. (2019). The effects of varieties and levels of rapeseed expeller cake on egg production performance, egg quality, nutrient digestibility, and duodenum morphology in laying hens. Poultry Sci., 98: 4942–4953.

Zhu F., Zhang B., Li J., Zhu L. (2020). Effects of fermented feed on growth performance, immune response, and antioxidant capacity in laying hen chicks and the underlying molecular mechanism involving nuclear factor-kB. Poultry Sci., 99: 2573–2580.

Received: 4 X 2022
Accepted: 5 IV 2023

Table 1. Composition and nutritional value of laying hen diets (%, as-fed basis)

Item	Dietary treatment			
	C	RRC	HRC	FRC
Ingredient				
Wheat	49.76	36.97	36.97	36.97
Maize	20.00	20.00	20.00	20.00
Soybean meal	17.27	7.70	7.70	7.70
Rapeseed cake	-	20.00	-	-
Hydrobarothermally treated rapeseed cake	-	-	20.00	-
Fermented rapeseed cake	-	-	-	20.00

Soybean oil	1.14	3.84	3.84	3.84
Sodium chloride	0.37	0.37	0.37	0.37
Limestone	9.54	9.32	9.32	9.32
Monocalcium phosphate	1.15	1.12	1.12	1.12
L-Lysine HCL	0.10	0.08	0.08	0.08
DL-Methionine	0.17	0.09	0.09	0.09
Vitamin-mineral premix[1]	0.500	0.50	0.50	0.50
Analyzed nutrients				
Crude protein	17.0	16.9	17.1	17.2
Ether extract	3.1	7.09	7.02	7.07
P	0.89	0.94	0.89	0.96
Ca	3.75	3,72	3,92	4.08
Non-starch polysaccharides	7.79	8.18	8.27	9.69
Glucosinolates (μmol/g)	0.03	2.95	2.41	0.33
Calculated nutritional value[2]				
AME (kcal/kg)	2700	2700	2700	2700
Crude fiber	2.36	4.76	4.76	4.76
Lysine	0.79	0.79	0.79	0.79
Arginine	0.96	0.94	0.94	0.94
Methionine	0.41	0.37	0.37	0.37
Methionine + Cysteine	0.72	0.72	0.72	0.72
Threonine	0.55	0.60	0.60	0.60
Tryptophan	0.19	0.19	0.19	0.19
Available P	0.40	0.40	0.40	0.40

[1]Supplied the following per kilogram of feed: 8 000 IU vit A, 2 500 IU vit D3, 20 mg vit E, 1.0 mg vit K_3, 1.5 mg vit B_1, 4 mg vit B_2, 1.0 mg vit B_6, 0.02 mg vit B_{12}, 0.1 mg biotin, 6.0 mg pantothenic acid, 65.0 mg Mn from manganese oxide, 52 mg zinc from zinc oxide, 45.0 mg I from ethylenediamine dihydroiodide, 0.15 mg Se from sodium selenite, 6 mg Cu.

[2]Calculated according to Polish Feedstuff Analysis Tables (Smulikowska and Rutkowski, 2018).

Table 2. The content of antinutritional factors in rapeseed products[1] (%, dry matter basis)

Content	RRC	HRC	FRC
Phytate-phosphorus	1.607	1.684	0.833
Non-starch polysaccharides	20.48	20.11	21.63
Arabinose	4.41	4.43	4.38
Xylose	1.51	1.55	1.52
Mannose	0.30	0.31	0.27

Galactose	1.50	1.53	1.50
Glucose	5.95	5.96	7.73
Uronic acids	6.81	6.33	6.23
Glucosinolates (μmol/g)	15.35	13.32	0.92
Gluconapin	3.07	2.97	0.27
Glucobrassicinapin	0.79	0.64	0.16
Progoitrin	8.87	8.51	0.43
Glucobrassicin	0.25	0.20	0.03
Hydroxyglucobrassicin	2.10	0.86	0.02
Neoglucobrassicin	0.27	0.12	n.d.[2]

[1]RRC – raw rapeseed cake, HRC – hydrobarothermally treated rapeseed cake, FRC – fermented rapeseed cake.
[2]Not detected.

Table 3. Blood biochemical parameters of laying hens[1]

	Dietary treatment				SEM	P-value
	C	RRC	HRC	FRC		
TP (g/L)	41.8 b	51.8 ab	61.2 a	61.0 a	1.973	0.001
ALB (g/L)	30.5 c	34.6 ab	30.9 bc	34.8 a	0.585	0.004
GLB (g/L)	11.3 c	17.3 bc	30.3 a	26.1 ab	1.942	0.001
TAG (mmol/L)	10.15 a	9.48 ab	8.71 b	10.22 a	0.216	0.038
TC (mmol/L)	3.59	4.20	3.73	4.25	0.148	0.295
AST (U/L)	227 a	165 b	125 c	166 b	7.700	0.001
ALT (U/L)	17.8	15.8	16.9	16.3	0.391	0.324
BIL (umol/L)	61.2 b	73.1 a	72.2 ab	66.8 ab	1.622	0.026
ALP (U/L)	257 a	255 a	198 ab	143 b	11.47	0.001
LDH (U/L)	2228	2409	2338	2692	65.1	0.066

CREAT (umol/L)	40.3 a	39.3 a	26.3 b	20.7 b	2.033	0.001
UREA (mmol/L)	3.08	2.94	3.08	3.03	0.110	0.971
UA (mmol/L)	0.273	0.230	0.321	0.251	0.012	0.054
GGT (U/L)	22.8	22.8	22.7	22.9	0.396	1.000
T4 (ng/mL)	75.2	77.2	74.4	80.5	1.222	0.300
T3 (ng/mL)	0.437 b	0.491 ab	0.460 b	0.576 a	0.014	0.001
Ca (mmol/L)	12.63 a	8.96 b	10.86 ab	11.44 a	0.343	0.001
P (mmol/L)	1.51 b	1.50 b	1.49 b	2.00 a	0.064	0.005
Mg (mmol/L)	2.59	2.64	2.87	3.25	0.102	0.081
Zn (umol/L)	121	115	134	126	3.269	0.218
Cu (umol/L)	23.0	29.9	23.9	26.4	1.380	0.303
Fe (umol/L)	74.6 a	68.0 ab	53.9 b	62.7 ab	2.644	0.034

[1]data representing mean values of 9 birds per treatment.

a, b – means within a row with different letters differ significantly (P≤0.05). TP, total protein; ALB, albumin; GLB, globulin; TAG, triacylglycerols; TC, total cholesterol; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; BIL, bilirubin; ALP, alkaline phosphatase; LDH, lactate dehydrogenase; CREAT, creatinine; UREA, urea; UA, uric acid; GGT, gamma-glutamyl transpeptidase; T3, free triiodothyronine; T4, free thyroxine.

Table 4. AME_N value of the diets, apparent nutrient digestibility coefficients and the retention of Ca and P in laying hens fed experimental diets[1]

	Dietary treatment				SEM	P-value
	C	RRC	HRC	FRC		
DM	90.13 a	87.97 b	87.84 b	87.50 b	0.292	0.002
EE	80.76 b	86.56 a	87.21 a	86.63 a	0.685	0.001
N retention	35.05	37.13	36.39	35.74	0.606	0.675
Ca retention	67.79 a	48.33 b	53.35 b	48.64 b	1.671	0.001
P retention	30.52 a	27.34 a	12.59 b	23.20 a	1.699	0.027
AMEn (MJ/kg)	11.21	11.21	10.85	10.76	0.075	0.055

[1]data represent means from 8 replicates (i.e., hens) per treatment

a, b – means within a row with different letters differ significantly (P≤0.05).

DM – dry matter, EE – ether extract AMEn - nitrogen-corrected apparent metabolizable energy.

Table 5. Physicochemical properties of ileal and cecal digesta in laying hens

	Dietary treatment				SEM	P-value
	C	RRC	HRC	FRC		
Small intestinal parameters						
Weight including digesta (g/kg BW)	33.0	34.6	32.3	33.0	0.728	0.729
Digesta DM (%)	22.9	21.8	23.5	21.4	0.358	0.116
Digesta viscosity (mPas)	2.66	2.32	2.39	2.45	0.064	0.279
Digesta pH	6.00	5.94	5.96	6.07	0.026	0.308
Cecal parameters						
Tissue weight (g/kg BW)	3.19 a	2.88 ab	2.67 b	2.86 ab	0.063	0.026
Digesta weight (g/kg BW)	3.63 a	2.44 b	2.36 b	2.77 b	0.131	0.001
Digesta pH	5.85 a	5.50 b	5.95 a	6.02 a	0.048	0.001
Ammonia (mg/g)	0.344 b	0.410 b	0.522 a	0.441 ab	0.017	0.001
Digesta DM (%)	23.7 b	25.5 ab	27.1 a	27.5 a	0.368	0.001

[1]data representing mean values of 9 birds per treatment.
a, b – means within a row with different letters differ significantly (P≤0.05).
BW – body weight, DM – dry matter.

Table 6. Microbial enzyme activity and the concentrations of short-chain fatty acids (SCFAs) in the cecal digesta of laying hens.[1]

	Dietary treatment				SEM	P-value
	C	RRC	HRC	FRC		
Enzyme activity (mmol/h/g)						
α-glucosidase	20.8 b	26.7 b	27.2 b	87.8 a	4.741	0.001
β-glucosidase	10.05	10.35	9.27	11.13	0.393	0.424
α -galactosidase	38.9 c	63.2 ab	84.3 a	62.2 b	3.812	0.001
β-galactosidase	52.4 b	95.1 a	109.4 a	79.7 ab	5.308	0.001

β -glucuronidase	18.7 ab	23.3 a	17.6 ab	13.2 b	1.040	0.004
α-arabinopyranosidase	4.24 b	6.97 b	6.35 b	13.97 a	0.707	0.001
β-xylosidase	16.5 a	16.0 ab	11.0 c	11.3 bc	0.727	0.003
SCFA concentrations (μmol/g)						
Acetic acid (C_2)	37.7 ab	44.9 a	29.8 c	36.5 bc	1.372	0.001
Propionic acid (C_3)	19.2 ab	21.7 a	14.3 b	17.2 ab	0.778	0.003
Isobutyric acid (C_{4i})	0.665	0.651	0.707	0.763	0.035	0.686
Butyric acid (C_4)	10.58 a	11.00 a	7.18 b	8.61 ab	0.489	0.013
Isovaleric acid (C_{5i})	0.974	0.807	0.988	1.063	0.053	0.386
Valeric acid (C_5)	1.04	1.31	1.20	1.28	0.045	0.118
Putrefactive SCFAs	2.65	2.77	2.89	3.12	0.102	0.440
Total SCFAs	70.1 ab	80.3 a	54.1 c	65.4 bc	2.424	0.001
SCFA profile (% of total SCFAs)						
C2	53.8	56.1	55.0	55.9	0.563	0.476
C_3	27.3	26.7	26.3	26.3	0.356	0.722
C_4	15.0	13.5	13.3	13.0	0.404	0.307

[1]data representing mean values of 9 birds per treatment.

a, b – means within a row with different letters differ significantly ($P \leq 0.05$).

SCFA – short chain fatty acids.

Dr hab. Aleksandra Drażbo
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Katedra Drobiarstwa i Pszczelnictwa
ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

Mgr inż. Magdalena Orlich
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Katedra Drobiarstwa i Pszczelnictwa
ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

OŚWIADCZENIE DOTYCZĄCE WKŁADU W PRZYGOTOWANIE OPUBLIKOWANYCH PRAC NAUKOWYCH

Jako jeden ze współautorów niżej wymienionej pracy, deklaruję następujący udział w jej powstaniu:

Orlich M., **Drażbo A.,** Ognik K., Rogiewicz A., Juśkiewicz J. The effect of raw, hydrobarothermally treated and fermented rapeseed cake on plasma biochemical parameters, total tract digestibility and gut function in laying hens. Annals of Animal Science 2023. DOI: 10.2478/aoas-2023-0040

Udział w opracowaniu i interpretacji wyników oraz w korekcie publikacji po recenzjach.

Łączny wkład: 10 %

ADrażbo 7.07.2023
.....
Podpis i data

Prof. dr hab. Katarzyna Ognik
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Katedra Biochemii i Toksykologii
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

Mgr inż. Magdalena Orlich
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Katedra Drobiarstwa i Pszczelnictwa
ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

OŚWIADCZENIE DOTYCZĄCE WKŁADU W PRZYGOTOWANIE OPUBLIKOWANYCH PRAC NAUKOWYCH

Jako jeden ze współautorów niżej wymienionej pracy, deklaruję następujący udział w jej powstaniu:

Orlich M., Drażbo A., **Ognik K.,** Rogiewicz A., Juśkiewicz J. The effect of raw, hydrobarothermally treated and fermented rapeseed cake on plasma biochemical parameters, total tract digestibility and gut function in laying hens. Annals of Animal Science 2023. DOI: 10.2478/aoas-2023-0040

Wykonanie analiz i udział w opracowaniu i interpretacji wyników w/w publikacji.

Łączny wkład: 10%

Katarzyna Ognik
.....
Podpis i data
10.07.2023.

Dr. Anna Rogiewicz
University of Manitoba
Faculty of Agricultural and Food Sciences
Department of Animal Science
12 Dafoe Road, Canada

Mgr inż. Magdalena Orlich
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Katedra Drobiarstwa i Pszczelnictwa
ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

OŚWIADCZENIE DOTYCZĄCE WKŁADU W PRZYGTOWANIE OPUBLIKOWANYCH PRAC NAUKOWYCH

Jako jeden ze współautorów niżej wymienionej pracy, deklaruję następujący udział w jej powstaniu:

Orlich M., Drażbo A., Ognik K., **Rogiewicz A.,** Juśkiewicz J. The effect of raw, hydrobarothermally treated and fermented rapeseed cake on plasma biochemical parameters, total tract digestibility and gut function in laying hens. Annals of Animal Science 2023. DOI: 10.2478/aoas-2023-0040

Współudział w wykonaniu analiz oraz opracowaniu i interpretacji wyników.

Łączny wkład: 10%



……7 lipca, 2023……..

Podpis i data

Prof. dr hab. Jerzy Juśkiewicz
Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności
Polskiej Akademii Nauk
ul. Tuwima 10, 10-748 Olsztyn

Mgr inż. Magdalena Orlich
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Katedra Drobiarstwa i Pszczelnictwa
ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

OŚWIADCZENIE DOTYCZĄCE WKŁADU W PRZYGOTOWANIE OPUBLIKOWANYCH PRAC NAUKOWYCH

Jako jeden ze współautorów niżej wymienionej pracy, deklaruję następujący udział w jej powstaniu:

Orlich M., Drażbo A., Ognik K., Rogiewicz A., **Juśkiewicz J.** The effect of raw, hydrobarothermally treated and fermented rapeseed cake on plasma biochemical parameters, total tract digestibility and gut function in laying hens. Annals of Animal Science 2023. DOI: 10.2478/aoas-2023-0040

Wykonanie analiz oraz udział w opracowaniu i interpretacji wyników.

Łączny wkład: 10%

10.07.23 .....
Podpis i data

Mgr inż. Magdalena Anna Orlich
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Katedra Drobiarstwa i Pszczelnictwa
Ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

OŚWIADCZENIE DOTYCZĄCE WKŁADU W PRZYGTOWANIE OPUBLIKOWANYCH PRAC NAUKOWYCH

Jako jeden ze współautorów niżej wymienionych prac, deklaruję następujący udział w ich powstaniu:

Kopacz, M., Drażbo, A.A., Śmiecińska, K., Ognik, K. Performance and Egg Quality of Laying Hens Fed Diets Containing Raw, Hydrobarothermally-Treated and Fermented Rapeseed Cake. Animals 2021, 11, 3083. https:// doi.org/10.3390/ani11113083

Udział w opracowaniu i interpretacji wyników oraz w korekcie (recenzji) publikacji.

Łączny wkład: 60%

Orlich M., Drażbo A., Ognik K., Rogiewicz A., Juśkiewicz J. The effect of raw, hydrobarothermally treated and fermented rapeseed cake on plasma biochemical parameters, total tract digestibility and gut function in laying hens. Annals of Animal Science 2023. DOI: 10.2478/aoas-2023-0040

Udział w opracowaniu i interpretacji wyników oraz w korekcie (recenzji) publikacji.

Łączny wkład: 60%

MOrlich 10|07|23 r.
Podpis i data