Авторы:
P. W. PLUMSTEAD, компания «Даниско Анимал Ньютришн», Великобритания
S. YU, компания «Дженнекор», концерн «Даниско А/С», Дания

В чем различия фитазных препаратов?

Сегодня многие специалисты по кормлению уже твердо убеждены в целесообразности применения ферментных препаратов с фитазной активностью, главной задачей которых в организме моногастричных является улучшение усвояемости фосфора и других питательных и биологически активных веществ. Изучению эффективности действия фитазы посвящено множество научных работ, среди которых исследования T.T. Tran и др. на тему «Простой и эффективный кинетический метод анализа фитаз при использовании в качестве субстрата белково-фитинового комплекса». Результаты длительных экспериментов, опубликованные в январе 2011 г. в издании «Аналитическая биохимия», углубляют понимание действия фитазных ферментов и их корреляцию с матричными данными при составлении рационов.

В данном совместном исследовании ученых шведского университета г.Лунд и компании «Дженнекор» изучалось взаимодействие фитатов и кормовых белков, образование непереваримых белково-фитиновых комплексов и возможность их применения в качестве субстрата для анализа активности фитазы. Авторы исследования показали, что белково-фитиновые комплексы, которые образовываются в кормах или пищеварительном тракте животных, значительно больше подходят в качестве субстрата для оценки активности фитаз, чем фитат натрия — химический препарат, обычно используемый лабораториями для анализа фитазы. С коммерческой точки зрения, исследование интересно тем, что оно основано на независимом анализе четырех фитаз, распространенных на международном рынке, по их эффективности гидролиза синтетического фитата натрия и натуральных белково-фитиновых комплексов, которые образовываются в условиях кислой среды желудка.

В **таблице** показана активность воздействия этих фитаз при уровне pH 3.0 и температуре 370С на белково-фитиновый комплекс (IP6) соевого или лизоцимного протеина по сравнению с фитатом натрия (IP6-Na) в качестве субстрата. Все фитазные препараты добавляли в растворы с субстратом в дозе 0,1 фитаз.ед./мл.

При использовании фитата натрия в качестве субстрата при низком уровне pH эффективность гидролиза фитата натрия одинаковая у двух бактериальных фитаз, но значительно ниже у грибковых фитаз. Разница между фитазами бактериального и грибкового происхождения известна и наблюдается при низких уровнях pH (Wyss и др., 1999). Особый интерес для животноводов представляют существенные расхождения грибковых и бактериальных фитаз, а также расхождения между бактериальными фитазами по их способности расщеплять белково-фитиновые комплексы. Непереваримые в кислотной среде желудка белково-фитиновые комплексы являются основным антипитательным фактором фитатов. Данное исследование впервые очевидно подтверждает, что повышение питательной ценности рациона от применения фитазы напрямую зависит от используемого вида фитазы бактериального происхождения. Следовательно, учитывая

Относительная активность фитаз *, %

Источник происхождения фитазы	Субстраты		
	IP6-соевый протеин	IP6-лизоцим	IP6-Na
Бактериальная фитаза *E.coli1* **	**164**	**229**	**100**
Бактериальная фитаза *E.coli2* **	**138**	**152**	**103**
Грибковая фитаза *A.niger*	**32**	**23**	**37**
Грибковая фитаза *P.lycii*	**25**	**13**	**10**

*Активность фитазных препаратов (количество освобожденного фосфора) показана относительно активности бактериальной фитазы *E.coli1* на фитат натрия (IP6-Na).
**Фитаза E.coli1 получена из дрожжей рода Schizosaccharomyces pombe и *E.coli2* –из дрожжей рода Pichia pastoris.

эти различия, необходимо применять разные матричные данные при составлении рационов.

Для большего и лучшего понимания результатов исследования, необходимо знать, что при использовании фитата натрия в качестве субстрата для определения фитазной активности in-vitro, фитиновая кислота в свободной кислотной форме или в форме натриевой соли не встречается ни в природе, ни в пищеварительном тракте птицы с низким pH (железистый и мускульный желудок) и свиней (желудок), а только связана в комплексное соединение с белками. Причина образования таких комплексов в пищеварительной системе заключается в том, что большинство белков растительного происхождения (кукурузы, соевого, подсолнечного и рапсового шротов, др.) имеют свои изоэлектрические точки при уровне pH 4.5. Поэтому, когда уровень pH снижается в пищеварительном тракте ниже изоэлектрической точки протеина, протеин положительно заряжается, что позволяет отрицательно заряженной молекуле фитиновой кислоты присоединиться к молекуле протеина, изменить ее изоэлектрическую точку и усвояемость (растворяемость) протеина (Reddy и др.1989; Konietzny и Greiner, 2003). Образование нерастворимых белково-фитиновых комплексов в отделе пищеварительного тракта с повышенной кислотностью играет важную роль в кормлении: белок, связанный фитатами, не подвергается гидролизу пепсина, что приводит к его повышенной секреции; увеличиваются эндогенные потери и ухудшается усвоение белков из-за снижения переваримости аминокислот в преджелудке (Vaintraub и Bulmaga, 1991; Konietzny и Greiner, 2003; Kies и др.,2006; Cowieson и др.,2008).

Данное исследование продемонстрировало пропорциональную зависимость между количеством фитатов в рационе и образованием неперевариваемых белково-фитиновых комплексов (рисунок). Количество неперевариваемых белково-фитиновых комплексов соевого белка или казеина возрастает почти линейно при увеличении концентрации фитата (плотность поглощения – 600 нм). Другими словами, антипитательный фактор фитата в кислой среде желудка животного пропорционален концентрации неперевариваемого фитата (IP6) в желудке, что подтверждает ранее опубликованную работу Cowieson и др. (2009), в которой показано поэтапное увеличение потерь эндогенных аминокислот в конце тонкого отдела кишечника при повышении уровня фитата.

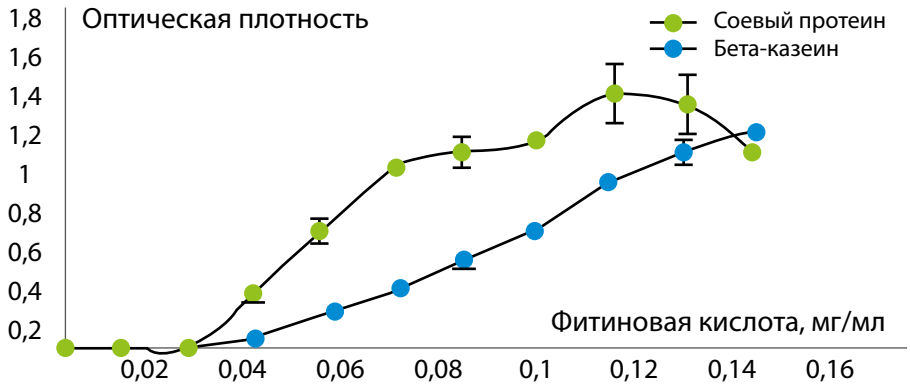
Таким образом, исследования последнего десятилетия подтверждают не только антипитательные свойства фитатов и проблему доступности фосфора и кальция, но и отрицательную роль фитата в образовании комплексов с белками, эндогенных потерях питательных веществ, усвояемости энергии и аминокислот.

Особенно очевидна разница между фитазами в сравнительном анализе, проведенном T.T.Tran и его коллегами, которые подтвердили свои предположения о том, что корректировка показателей питательной ценности рационов за счет разных фитаз не может быть одинаковой. Это исследование заставляет пересмотреть существующую практику применять одинаковые матричные данные ряда производителей фитазных препаратов. Кроме того, поскольку действие фитата в кислой среде на образование комплексов с протеином пропорционально концентрации фитата и дозы фитазы в корме, то при корректировке матричных данных фитаз, вводимых в рацион, необходимо учитывать три фактора:

1. способность фитазы расщеплять белково-фитиновые комплексы при низком уровне pH в зависимости от источника происхождения фитазного препарата;
2. уровень фитатов в рационе;
3. повышенная доза фитазы способствует ускорению гидролиза субстрата в пищеварительном тракте животного, тем самым эффективнее расщепляет белково-фитиновые комплексы, снижает их антипитательное действие и повышает усвояемость энергии и аминокислот рациона.

На основании проведенных исследований специалистам по кормлению важно понимать, что основная проблема фитата заключается в его способности образовывать в кислой среде желудка нерастворимые комплексы с белками, в то время как фитаза повышает усвояемость энергии и аминокислот. Соответственно, нужно выбрать наиболее эффективную фитазу для своих рационов. Эффективность фитазы в кормлении зависит, в первую очередь, от ее способности расщеплять белково-фитиновые комплексы при низком уровне pH, то есть снижать их антипитательные последствия. При этом повышается усвоение энергии и протеина.

Влияние концентации фитиновой кислоты на образование нерастворимых комплексов фитата (S.Yu и др., неопубликованные данные)



Информация предоставлена Официальным дистрибутором компании «Danisco» в Украине Представительством компании «Biochem Zusatzstoffe Handels und Produktionsges. mbH» в Украине - ООО «Биовак Украина».

Литература

1. A simple and fast kinetic assay for phytases using phytic acid-protein complex as substrate/ T.T. Tran, R.Hatti-Kaul, S.Dalsgaard, S.Yu // Analytical Biochemistry.-2011.- 410.-P.177-184
2. Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP1-5) including IP5 isomers with dietary proteins and iron and inhibition of pepsin / S.Yu, A. Cowieson, P. Plumstead, C. Gilbert and S. Dalsgaard.— Заявлено для публикации.