

Vědecký výbor výživy zvířat

Význam kyseliny fytové ve výživě zvířat a lidí a důsledky její přítomnosti v krmivech a potravinách

Prof. Ing. Milan Marounek, DrSc.

Praha, listopad 2004



Výzkumný ústav živočišné výroby
Přátelství 815, Praha - Uhřetěves,
PŠČ: 104 01, www.vuzv.cz

Význam kyseliny fytové ve výživě zvířat a lidí a důsledky její přítomnosti v krmivech a potravinách

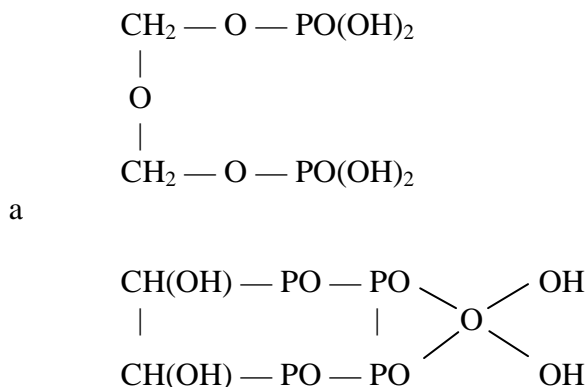
Kyselina fytová je esterem *myo*-inositolu a kyseliny fosforečné. Je hlavní formou fosforu v semenech rostlin: představuje 50 – 85% fosforu v semenech obilovin, olejnin a luštěnin. Na jedné straně je považována za antinutriční látku, která snižuje využití fosforu, zinku, vápníku a mědi u zvířat a lidí. Na druhé straně potlačuje tvorbu reaktivních hydroxylových radikálů katalyzovanou železem a rovněž má hypocholesterolemický účinek. V místech s vysokou intenzitou živočišné výroby (chovy prasat a drůbeže) je hlavní příčinou znečištění povrchových vod fosfáty. U zvířat s jednoduchým žaludkem není většina kyseliny fytové strávena, s výkaly přichází do kejdy a teprve tam podléhá mikrobiálnímu rozkladu. Z toho důvodu se do krmiva prasat a drůbeže často přidává fytasa. Úkolem předložené studie bylo shrnout a zhodnotit poznatky o významu kyseliny fytové a zvážit záporné, eventuálně i kladné její přítomnosti v krmivech a potravinách.

OBSAH

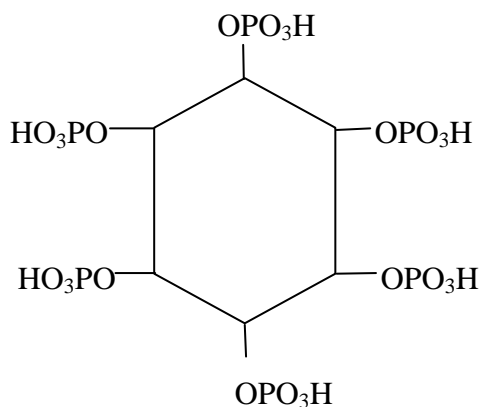
TITULNÍ STRÁNKA	1
Význam kyseliny fytové ve výživě zvířat a lidí a důsledky její přítomnosti v krmivech a potravinách	1
1. ÚVOD	4
2. BIOLOGICKÁ FUNKCE KYSELINY FYTOVÉ V ROSTLINÁCH	5
3. METODY STANOVENÍ KYSELINY FYTOVÉ	5
3.1. STANOVENÍ KYSELINY FYTOVÉ V ROSTLINNÉM MATERIÁLU TRADIČNÍMI POSTUPY	5
3.2. SEPARAČNÍ METODY STANOVENÍ KYSELINY FYTOVÉ V BIOLOGICKÝCH VZORCÍCH	6
4. VÝSKYT KYSELINY FYTOVÉ V ROSTLINÁCH	8
5. HYDROLÝZA KYSELINY FYTOVÉ	9
5.1. MIKROBIÁLNÍ FYTASY	9
5.2. FYTASOVÁ AKTIVITA SLIZNICE STŘEVA	10
5.3. ROSTLINNÉ FYTASY	11
6. INTERAKCE KYSELINY FYTOVÉ S MINERÁLNÍMI PRVKY A PROTEINY	11
7. VYUŽITÍ FOSFORU KYSELINY FYTOVÉ U PŘEŽVÝKAVCŮ	13
7.1. DOSPĚLÍ PŘEŽVÝKAVCI	13
7.2. TELATA	14
8. VYUŽITÍ FOSFORU KYSELINY FYTOVÉ U PRASAT	16
9. VYUŽITÍ FOSFORU KYSELINY FYTOVÉ U KRÁLÍKŮ	17
10. VYUŽITÍ FOSFORU KYSELINY FYTOVÉ U DRŮBEŽE	19
11. DŮSLEDKY PŘÍTOMNOSTI KYSELINY FYTOVÉ V POTRAVINÁCH	22
11.1. INHIBIČNÍ ÚČINEK KYSELINY FYTOVÉ NA DOSTUPNOST MINERÁLNÍCH LÁTEK	23
11.2. ANTIOXIDAČNÍ ÚČINKY KYSELINY FYTOVÉ A VZTAH K INTERMEDIÁRNÍMU METABOLISMU	23
12. ZÁVĚR	25
13. LITERATURA	26

1. Úvod

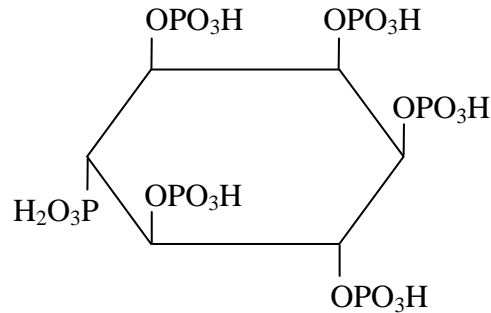
Kyselina fytoová je hlavní formou fosforu v semenech rostlin. Z toho se odvozuje její význam ve výživě zvířat i lidí. Objevena byla v roce 1855 Hartigem, který v semenech našel granule nazvané „globoidy“, obsahující fosfor, vápník a hořčík, nikoliv však dusík. První představa tudíž byla, že se jedná o fosfát kombinovaný se sacharidem. Tomu však elementární složení nalezené sloučeniny neodpovídalo. Jedny z prvních představ o struktuře této látky jsou na níže uvedených vzorcích:



Základní význam pro poznání struktury mělo zjištění, že její hydrolyzou vzniká inositol a kyselina fosforečná. Z té doby pochází i název „fytin“, který se udržel do dneška a označuje se jím směsná sůl, ve které se kyseliny fytoová vyskytuje v přírodě. Vzorec odvozený z těchto poznatků je



Ze vzorce vyplývá, že kyselina fytoová je 12ti sytná. Vysvětlila se tím její veliká schopnost vázat různé kationty (Anderson 1912). Nejasná zůstávala konformace fosfátových skupin v rámci molekuly. Tu vyřešil týž autor o dva roky později (Anderson 1914):



Vzorec je dodnes uznáván. Přesně vyjádřeno slovy je kyseliny fytová:

myo – inositol - 1, 2, 3, 4, 5, 6 – hexakis dihydrogen fosforečná kyselina

Formálně se inositol řadí mezi cyklytol, což je skupina alkoholických cukrů. Vedle isomeru *myo*- existují i další, celkem osm (např. *neo*-, *chiro*-, *scillo*-). Inositol je vlastně hexahydroxycyklohexan a jednotlivé isomery se liší orientací hydroxylových skupin vůči cyklohexanovému kruhu. I tyto isomery se v přírodě vyskytují, není jim však přisuzována biologická aktivita.

2. Biologická funkce kyseliny fytové v rostlinách

V podobě fytinu představuje kyselina fytová zásobu fosforu a mikroprvků pro klíčící rostlinu. Patří tudíž, podobně jako škrob a fruktany k zásobním látkám rostlin, schopných mobilizace v případě potřeby. Představuje rovněž zásobu energie, neboť transfosforylací umožňuje vznik ATP z ADP a GTP z GDP. Biologickou funkci mají i nižší inositolfosfáty, o nichž bude pojednáno v dalším textu a inositol samotný (je např. růstovým faktorem kvasinek).

3. Metody stanovení kyseliny fytové

3.1. Stanovení kyseliny fytové v rostlinném materiálu tradičními postupy

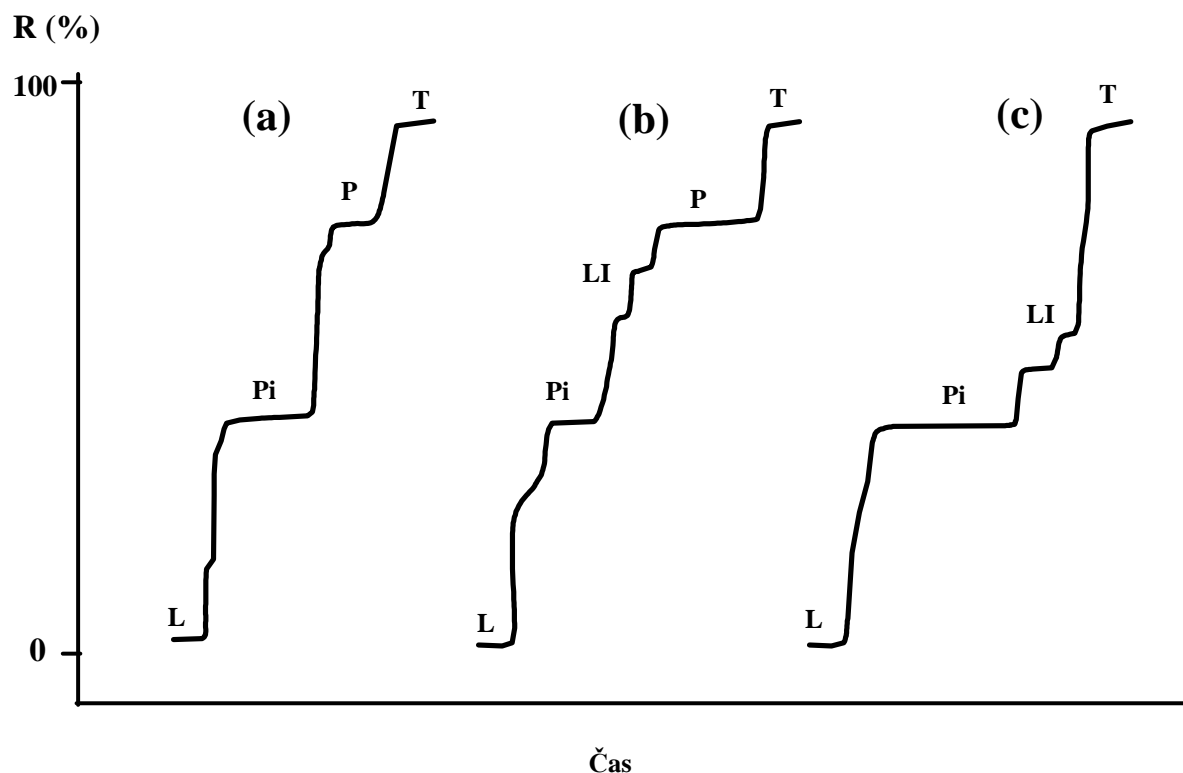
Stanovení kyseliny fytové v rostlinném materiálu je dobře zvládnuté. Je založeno na jejím srážení v podobě železité soli, což popsali již Heubner a Stadler v r. 1914. Kyselina fytová se ze vzorků musí vyextrahovat zředěnou kyselinou chlorovodíkovou nebo trichloroctovou. Výhodou kyseliny trichloroctové je to, že zabraňuje současné extrakci rozpustných proteinů. Potom se kyseliny fytové vysráží přidávkem známého množství železité soli a odstředí. Měří se úbytek železa v supernatantu (Haug a Lantzsch 1983), případně se mineralizuje sediment fytátu železitého a stanoví se železo nebo fosfor (Morse a kol. 1992). Kyselina fytová se železem sráží v různém poměru, nejedná se o stechiometrický

vztah. Stanovení ruší fosfáty což komplikuje použití pro analýzu různých biologických materiálů. Jiná metoda stanovení kyseliny fytové je založena na její hydrolyze fytasou a následném stanovení uvolněného fosfátu.

3.2. *Separační metody stanovení kyseliny fytové v biologických vzorcích*

Tradiční postupy stanovení kyseliny fytové, které vyhovují při analýze cereálií narážejí na problémy při jejich aplikaci na různé biologické vzorky, např. tkáně, výkaly a vzorky zažtiny z trávicího traktu. Je jimi obtížné stanovit malá množství kyseliny fytové v přítomnosti velké koncentrace fosfátů. Nelze jimi stanovit nižší inositolfosfáty, protože železité ionty je nesráží. Moderní metodou stanovení kyseliny fytové je vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Umožňuje současně stanovit i nižší inositolfosfáty. Biologický vzorek je extrahován kyselinou chlorovodíkovou a hrubý extrakt je přečištěn na koloně anexu z níž je kyselina fytová (s dalšími inositolfosfáty) eluována 2M HCl. Eluát je vakuově odpařen, odparek rozpuštěn a analyzován na koloně s anexem nebo v reversní fázi (Harland a Narula 1999). Protože kyselina fytová nemá charakteristické absorpční spektrum, používá se pro ni refraktometrický detektor. Další moderní separační technikou, kterou lze využít pro stanovení kyseliny fytové je kapilární isotachoforéza. Umožňuje rozdělit směsi iontů průchodem elektrického proudu na samostatné zóny jednotlivých látek. Principem dělení jsou rozdílné rychlosti pohybu různých iontů v elektrickém poli. Rovněž tato metoda umožňuje stanovit vedle kyseliny fytové i níže fosforylované estery *myo*-inositolu. Isotachoforéza byla úspěšně použita pro stanovení kyseliny fytové v cereálních výrobcích (Špaňo 1992), obilných zrnech, hrachu, sojových bobech a krmných směsích (Blatny a kol. 1995). V současné době používáme kapilární isotachoforézu pro stanovení kyseliny fytové i v takových biologických vzorcích jako jsou výkaly prasat a drůbeže. Stanovení kyseliny fytové v těchto vzorcích je možné až po oddělení od řady rušivých látek. Z toho důvodu je třeba kyselinu fytovou oddělit po kyselé extrakci srážením jako fytát železitý, zbylé železité ionty stanovit kolorimetricky a po promytí sraženinu rozpustit vypočteným množstvím hydroxidu sodného.

Pro stanovení kyseliny fytové ve vzorcích zažtiny a výkalech se osvědčila isotachoforetická metoda, kterou vypracovali Duskova a kol. (2001). Obtížnost stanovení kyseliny fytové v takových vzorcích spočívá v přítomnosti vysokého množství fosfátů a koloidních látek a pokročilého stupně defosforylace inositolhexafosfátu. Kyselina fytová je po extrakci 0,95 M HCl srážena FeCl_3 . Nespotřebované ionty Fe^{3+} se stanoví kolorimetricky po reakci s tironem. Z toho se vypočte množství NaOH nutné k rozpuštění fytátu železitého.



Obr. 1. Isotachoforegramy extraktů krmiva (a) a výkalů králíků (b),(c), před (b) a po (c) působení fytasy. P, fytát; LI, nižší inositolfosfáty; Pi, anorganický fosfát; L, vedoucí anion; T, koncový anion; R, relativní odpor.

Hydroxid železitý se oddělí odstředěním. Supernatant se neutralizuje HCl (v pozdější modifikaci metody katexem v H^+ cyklu). Roztok se pak analyzuje na přístroji pro kapilární isotachoforesu, s použitím Cl^- jako vedoucího aniontu, bis-tris-propanu, a kyseliny 2-morfolinetansulfonové jako koncového aniontu. Na isotachoforegramu se zóna fytátu identifikuje podle výšky, přičemž délka zóny udává množství. Identitu zóny je vhodné potvrdit: po přidavku fytasy a inkubaci má zmizet. Příklad isotachoforetického dělení je na obrázku č. 1. Zóna kyseliny fytové na isotachoforegramu je dobře oddělená a dostatečně dlouhá. K vyhodnocení zápisu se používá program dodaný výrobcem přístroje.

Vysokoučinná kapalinová chromatografie a kapilární isotachoforesa nejsou jediné přístrojové metody vhodné ke stanovení kyseliny fytové. Grases a kol. (2001) použili pro stanovení velmi malých koncentrací kyseliny fytové plynovou chromatografií. Postup je složitý a ke chromatografickému dělení se přikročí až po řadě kroků, kterými se kyselina fytová a nižší inositolfosfáty převedou na trimetylsilylderiváty inositolu.

4. Výskyt kyseliny fytové v rostlinách

Kyselina fytová představuje asi 50 – 85% fosforu v semenech obilovin, olejnin a luštěnin. Obsah kyseliny fytové v semenech obilovin je uváděn takto (Reddy a kol. 1982):

Pšenice	0,62 – 1,35%
Žito	0,97%
Ječmen	0,97 – 1,16%
Kukuřice	0,89 – 0,99%
Oves	0,79 – 1,01%
Rýže	0,34 – 0,89%

Její obsah v endospermu je malý, v povrchových vrstvách semen naopak vysoký. Špaňo (1992) našel v celém pšeničném znu 0,95 – 1,08% kyseliny fytové, v otrubách 3,2 – 4,6%, klíčcích 1,5 – 1,8% a v mouce pouze 0,02 – 0,11%. V důsledku toho je obsah kyseliny fytové v mouce nízký ve srovnání s otrubami a klíčky, v chlebu celozrnném mnohem vyšší než v chlebu z bílé mouky. Pšeničný chléb např. obsahuje jen 0,015% kyseliny fytové, ale celozrnný 0,3% (Špaňo 1992). Obsah kyseliny fytové v semenech luštěnin je tento (Reddy a kol. 1982):

Sója	1,00 – 1,47%
Hrách	1,20%
Fazole	0,55 – 0,75%
Čočka	0,51%

Mnoho kyseliny fytové je v semenech řepky: 2 – 4% (Reddy a kol. 1982). Velké množství kyseliny fytové bývá v surových rostlinných olejích, rafinací však její obsah výrazně klesá. V rostlinných produktech kyselinu fytovou doprovází nižší inositolfosfáty. Obsah kyseliny fytové v rostlinách kolísá. Je ovlivněn odrůdou, klimatem, zavlažováním, typem půdy i umělým hnojením. Reddy a kol. (1982) uvádí, že fosfor kyseliny fytové představuje 81% celkového fosforu rýže, 60 – 80% pšenice, 66 – 70% ječmene, 83 – 88% kukuřice a 50 – 58% u sójových bobů.

5. Hydrolýza kyseliny fytové

Fosfor obsažený v kyselině fytové může být organismy využit až po enzymové hydrolýze fytasou. Fytasy se řadí k fosfatasám a dělí se podle toho, kterou fosfátovou skupinu v kyselině fytové nejprve odštěpí na 3-ftyasy (*EC* 3.1.3.8) a 6-ftyasy (*EC* 3.1.3.26). 3-ftyasy se vyskytují v mikroorganismech a 6-ftyasy v rostlinách. Enzymovou hydrolýzou vznikají postupně nižší inositolfosfáty. Konečným produktem hydrolýzy je 6 molekul ortofosfátu a *myo*-inositol.

5.1. Mikrobiální fytasy

Fytasovou aktivitu mají často plísňe. Pro výrobu fytasy se nejčastěji používají kmeny *Aspergillus niger*. Fytasovou aktivitu mají i kvasinky, např. *Candida tropicalis*, *Torulopsis candida* a *Saccharomyces cerevisiae* (Dvořáková 1998). Plísňové fytasy mohou být extra- i intracelulární, podobně i další. Fytasy jsou všeobecně termostabilní a mohou působit v rozdílných oblastech pH. Většina mikrobiálních fytas, zejména z plísňí má optimum pH mezi 4,5 a 5,5. Některé bakteriální fytasy mají optimum pH 6,5 – 7,5. Fytasy rostlinných semen mají optimum pH 4,0 – 5,6. Některé fytasy mají dvě optima pH, např. *Citrobacter freundii* při 2,7 a 5,0. Málo fytas je přísně specifických ke kyselině fytové. Většina štěpí i jiné organické fosfáty, ovšem s menší intenzitou. Nadbytek kyseliny fytové může enzym inhibovat. Slabý inhibiční účinek má i nadbytek reakčního produktu, tj. anorganického fosfátu. V takovém stupni čistoty, aby bylo možno zjistit další charakteristiky, bylo zatím připraveno jen málo fytas. Dvořáková (1998) uvádí přehled publikovaných molekulových hmotností fytas z různých zdrojů. Pohybují se v širokém rozmezí, v desítkách a stovkách kDa.

Mikroorganismy jsou hlavním činitelem rozkladu kyseliny fytové v trávicím traktu. Nasvědčuje tomu zjištění, že u gnotobiotických krys byla téměř všechna kyselina fytová přijatá potravou nalezena v exkrementech, zatímco u konvenčních krys vyloučení kyseliny fytové činilo 44 a 78% příjmu, v závislosti na tom, byl-li příjem vápníku nízký či vysoký (Wise a Gilbert 1982). Identita mikroorganismů rozkládajících kyselinu fytovou v živočišném trávicím traktu není známa. Výjimkou je bachor přežvýkavců. Yanke a kol. (1998) zjistili, že tuto enzymovou aktivitu mají bakterie *Selenomonas ruminantium*, *Megasphaera elsdenii*, *Prevotella ruminicola*, *Mitsuokella multiacidus* a *Treponema* spp. Aktivita byla asociována s buňkami. Nejvyšší fytasovou aktivitu měly kmeny *Selenomonas ruminantium*, u nichž byla zjištěna v 96% případů. U jednoho z kmenů Yanke a kol. (1999) enzym izolovali a zjistili jeho vlastnosti. Fytasa o molekulové hmotnosti 46 kDa byla kódována jediným genem.

Optimální teplota jejího působení byla 50 – 55°C a optimální pH 4,0 – 4,5. Ionty rtuti a železa v obou mocenstvích fytasovou aktivitu inhibovaly.

Řada bakteriálních fytas byla studována ve snaze nalézt alternativu ke komerčním plísňovým fytasám. Kyselinu fytovou např. hydrolyzují zástupci rodu *Lactobacillus* (Shirai a kol. 1994). Jiní autoři (Zamudio a kol. 2001) však upozorňují, že v případě *Lactobacillus plantarum* je aktivita fytasy ve skutečnosti nespecifickou aktivitou fosfatasovou. Daná fosfatasa měla molekulovou hmotnost 52 kDa, optimum pH při 5,5 a teploty při 65°C. Vyšší aktivitu než ke kyselině fytové měla k monofosforylovaným sloučeninám, např. k acetylfosfátu. Tento případ ukazuje, jak úzká je hranice mezi fytasami a fosfatasami. Kerovu a kol. (1998) isolovali a charakterizovali fytasu z bakterie *Bacillus subtilis*. Aktivita byla podmíněna přítomností Ca^{2+} iontů. Indukce tvorby této fytasy substrátem nebyla postačující, pokud byl v médiu dostatek anorganického fosfátu. Dalším zástupcem rodu *Bacillus*, který produkuje fytasu, je *Bacillus amyloliquefaciens* (Kim a kol. 1999).

Často je třeba detegovat fytasovou aktivitu při výběru z velkého množství mikroorganismů. K tomu účelu slouží jejich kultivace v Petriho miskách, na agaru s přídavkem nerozpustného fytátu vápenatého. Původní způsob provedení kritizovali Bae a kol. (1999), kteří poukázali na to, že vyjasnění zóny kolem některých kolonií nebylo způsobeno hydrolýzou fytátu vápenatého, ale jeho rozpuštěním organickými kyselinami, které bakterie produkovaly. Metodu vhodným způsobem modifikovali. Chen (1998) použil postup, kdy médium ztužené agarem v Petriho misce obsahuje fytát sodný jako jediný zdroj fosforu. Médium je inokulováno indikátorovou baktérií, která fytasovou aktivitu nemá a převrstveno agarem bez indikátorové bakterie (médium stejné). Na tuto druhou agarovou vrstvu se provede výsev zředěného vzorku. Indikátorová bakterie naroste v kruzích pouze kolem kolonií těch bakterií, které mají fytasovou aktivitu a uvolní fosfát, který indikátorová bakterie potřebuje pro růst.

5.2. Fytasová aktivita sliznice střeva

Na rozkladu fytátu se ve střevu účastní i fytasa sliznice (EC 3.1.3.8). Patří mezi fytasy řady 3, tzn. hydrolýzu začíná odštěpením fosfátu z 3.C inositolu. Má tudíž blíže k mikrobiálním než rostlinným fytasám. Bitar a Reinhold (1972) našli fytasovou aktivitu, spolu s aktivitou alkalické fosfatasy, v střevní mukose potkana, kuřete, telete a člověka. Oba enzymy se lišily optimem pH a podobaly se potřebou iontů Zn^{2+} a inhibicí fenylalaninem. Cooper a Gowing (1983) zjišťovali fytasovou aktivitu mukosy izolované z vnitřního povrchu tenkého střeva potkana, králíka, morčete a křečka. Fytasová aktivita se nacházela

v kartáčovém lemu sliznice a byla srovnatelná s aktivitou alkalické fosfatasy. Nejvyšší hodnotu aktivity vykázal potkan, následován křečkem a morčetem. Velmi nízká byla tato aktivita u králíka. Optimální pH slizničních fytas se u jednotlivých zvířat lišilo: nejnižší u králíka (7,5), vyšší u potkana (8,0), nejvyšší u křečka a morčete (9,0). Iqbal a kol. (1994) poukázali na to, že aktivita fytasy v tenkém střevu člověka je velmi nízká, 30x nižší než v tenkém střevu potkana. Nelze jí proto přisuzovat větší význam.

5.3. Rostlinné fytasy

Třetím zdrojem fytasové aktivity v trávicím traktu, je fytasa obsažená v semenech rostlin. Nejvyšší bývá v žitě, nejnižší v kukuřici. Rozpětí hodnot mezi těmito krajními případy je značné, jak dokládá následující přehled (Pallauf a Rimbach 1997):

Žito	5130	U/kg
Pšenice	1193	U/kg
Ječmen	582	U/kg
Oves	42	U/kg
Hrách	115	U/kg
Sója	55	U/kg
Kukuřice	15	U/kg

Význam rostlinných fytas je značný, v případě zkrmování žita, pšenice a pšeničných otrub. Převyšuje příspěvek daný k hydrolýze kyseliny fytové fytasovou aktivitou střevní sliznice.

6. Interakce kyseliny fytové s minerálními prvky a proteiny

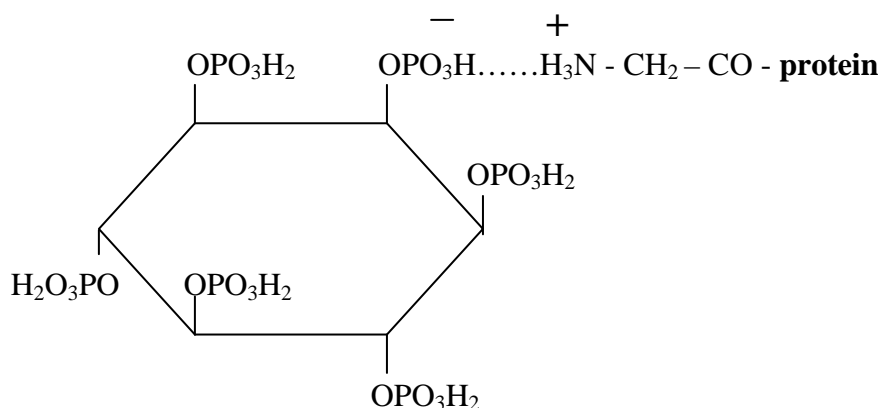
Kyselina fytová je silnou 12-sytnou kyselinou s obzvláště velkou schopností tvořit komplexy s různými kationty. Vazba kationtu je ovlivněna jeho koncentrací, koncentrací kyseliny fytové, přítomností dalších kationtů a hodnotou pH. Afinita kyseliny fytové vůči kationtům klesá v tomto pořadí: Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} (Vohra a kol. 1965). Pevná vazba kationtů kovů kyselinou fytovou ztěžuje jejich vstřebávání. V rozvojových zemích je běžný nedostatek zinku a železa způsobený potravou chudou na tyto prvky a bohatou na kyselinu fytovou. Nedostatek železa způsobuje anemii, nedostatek zinku vede k retardaci

růstu, špatné funkci pohlavních orgánů a poškození kůže. Vápník ve vyšších koncentracích vazbu zinku kyselinou fytoovou podporuje tím, že dochází ke ko-precipitaci i malých množství Zn (Szkudelski 1995). Kyselina fytoová je spolu s kyselinou šťavelovou příčinou malé stravitelnosti vápníku, hořčíku, zinku a železa obsaženého v rostlinách. Defosforylací, byť i jen částečnou, schopnost kyseliny fytoové vázat kationty kovů klesá. Tetrafosfát inositolu již vstřebávání Ca a Zn nebrzdí.

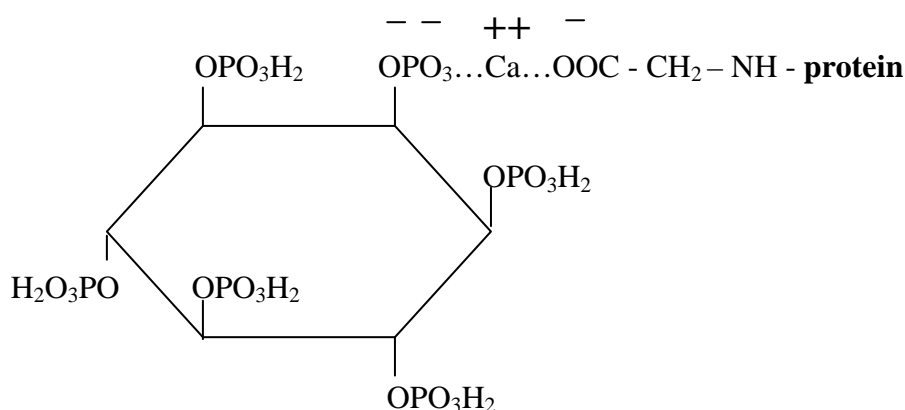
Kyselina fytoová váže také kationty těžkých kovů. Dalo by se předpokládat, že kyselina fytoová snižuje toxicitu těžkých kovů, jejich vstřebávání a ukládání v tkáních. Přídavek fytoasy by tento příznivý účinek měl rušit. Skutečnost je ale složitější a literární údaje se v tomto ohledu různí. U krys přídavek kyseliny fytoové do krmiva zhoršil vstřebávání zinku, ale zvýšil ukládání kadmia v játrech. Přídavek fytoasy ukládání Cd v játrech krys snížil (Rimbach a kol. 1995), případně neměl vliv (Rimbach a kol. 1998). U prasat přídavek fytoasy do krmiva zvýšil ukládání Cd v játrech a ledvinách, v souladu s výše uvedenou představou (Rimbach a kol. 1996). Rozdílnost těchto výsledků lze zřejmě přičíst různému obsahu Cd v pokusných krmných dávkách a také vlivu ostatních složek krmiva. V jiné práci bylo totiž ukázáno, že látky s chelatačním účinkem, přítomné v trávenině, např. aminokyseliny, uvolňují Cd, Pb, Zn a Cu z vazby kyselinou fytoovou (Wise 1983). Je snaha účelně využít afinitu kyseliny fytoové k těžkým kovům. Kyselina fytoová imobilizovaná vazbou do polyvinylpyridinu měla dobrou schopnost vychytávat ionty těžkých kovů (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{3+}) z průmyslových a důlních odpadních vod (Tsao a kol. 1997).

Kyselina fytoová může tvořit komplexy s proteiny (obrázek č. 2). Při nízkém pH se elektrostaticky váže na zásadité aminokyseliny (arginin, lysin, histidin). V isoelektrickém bodě se tento komplex rozpadne, ale vytvoří se nový, v němž vazbu mezi kyselinou fytoovou a proteinem zprostředkovávají dvojmocné kationty, zejména Ca^{2+} . Komplexy kyseliny fytoové s proteiny jsou nerozpustné a odolnější k proteolytickému štěpení než byl výchozí protein. Důsledkem toho je korelace mezi příjmem kyseliny fytoové potravou a ztrátou proteinu v exkrementech. Kyselina fytoová snižuje aktivitu trávicích enzymů, pepsinu, trypsinu, α -amylasy a lipasy. To může být způsobeno nespecifickou interakcí s proteinem enzymu, nebo odnětím iontů Ca^{2+} , které mnohé enzymy pro svůj účinek potřebují. Na druhou stranu, interakce s proteiny zmírňuje nepříznivý účinek kyseliny fytoové na vstřebávání Ca a Zn. Přídavek fytoasy do krmiv často zlepšuje stravitelnost proteinu a rovněž dostupnost Ca a Zn (Ravindran at al. 1995).

a)



b)



Obr. 2. Interakce kyseliny fytové s proteiny při nízkém (a) a neutrálním (b) pH.

7. Využití fosforu kyseliny fytové u přežvýkavců

7.1. Dospělí přežvýkavci

U dospělých přežvýkavců je využití fosforu kyseliny fytové bezproblémavé. Díky mikroorganismům v bacheru přežvýkavců je kyselina fytová rozložena a fosfátové ionty vstřebány. Tento poznatek je znám déle než půl století (Reid a kol. 1947, Raun a kol. 1956). Později však vznikly pochyby, zda platí i u vysokoužitkových dojnic a v intenzivním výkrmu, kdy zvířata přijímají velké množství koncentrátů, jejichž část bacherové fermentaci uniká. Clark a kol. (1986) a Morse (1992) i v těchto případech vysokou, prakticky úplnou využitelnost fosfátového fosforu potvrdili. Ke stejnému názoru jsme došli rovněž i my po isotachoforetickém stanovení kyseliny fytové ve výkalech vysokoužitkových dojnic z účelového hospodářství VÚŽV Uhřetěves (Marounek a kol. 2000a). Přesto mohou nastat situace, kdy je i u dospělých přežvýkavců hydrolýza kyseliny fytové snížena. Šroty olejin

mohou být tepelně ošetřeny, s cílem zvýšit bypass proteinu do duodena. Konishi a kol. (1999) ošetřili sójový a řepkový šrot při teplotách od 133 do 153°C. Inkubací „nylon bag“ v bachoru ovcí zjistili vliv této úpravy na degradaci kyseliny fytové. Vliv tepelné úpravy byl větší u řepkového šrotu. Autoři předpokládají, že asi polovina kyseliny fytové může takto uniknout bachorové hydrolýze. Tuto skutečnost přisuzují pevné vazbě kyseliny fytové na proteiny, jejichž odolnost vůči proteolýze tepelnou úpravou značně vzroste. Při záhřevu roste obsah nižších inositolfosfátů na úkor kyseliny fytové (Park a kol. 2000).

7.2. *Telata*

Metabolismus kyseliny fytové v trávicím traktu telat byl sledován nepoměrně méně. Nelson a kol. (1976) zjišťovali v bilančním pokuse stravitelnost kyseliny fytové u telat po odstavu, věku 9 týdnů. Telata přijímala kukuřičný šrot, oves, sóju. Autoři došli k závěru, že stravitelnost kyseliny fytové je nejméně 99%. K analýzám použili starší techniku (srážení fytátu železitého). K rozhodnutí zjistit, do jaké míry je u telat kyselina fytová stravitelná, nás vedlo několik okolností. Především skutečnost, že kyselinou fytovou u telat v období mléčné výživy se nikdo nezabýval, navzdory tomu, že mléčné náhražky v současné době obsahují komponenty rostlinného původu, v kterých je kyselina fytová obsažena (sójová mouka, sójový protein, extrahovaný lněný šrot). V neposlední řadě i fakt, že jsme zavedli moderní isotachoforetickou metodu stanovení kyseliny fytové v krmivech a exkrementech (Duskova a kol. 2001). Proto jsme v prvním pokuse analyzovali rektální vzorky výkalů telat věku 1, 6 a 13 týdnů. Do odstavu ve věku 6 týdnů byla telata krmena mlékem, od 4. dne měla volný přístup k startérovému koncentrátu, později také k senu. Koncentrace kyseliny fytové ve výkalech značně kolísala, od 1 mg do 2,34 g v 1 kg sušiny. Kyselina fytová představovala 0 – 8,9% celkového fosforu (Dušková a kol. 2001). V dalších dvou pokusech jsme již použili komerční mléčnou náhražku. Uskutečnili jsme 2 bilanční měření stravitelnosti živin u telat ve věku 12 a 16 týdnů (Skrivanova a kol. 2004). V zjednodušeném podání shrnuje výsledky první z obou bilancí tabulka 1. V průměru 4,2% fosforu kyseliny fytové, který byl přijat s potravou (a představoval v jednotlivých skupinách 8,9, 13,8 a 8,6% alimentárního příjmu fosforu), nebylo stráveno. Podíl „nestráveného“ celkového fosforu byl vyšší (7,3%), zahrnuje však i fosfor endogenních sekretů. V tabulce č. 2 je složení výkalů telat. Fytátový fosfor představoval 6,5 – 9,0% celkového fosforu a koreloval s obsahem vápníku. Hlavní frakcí sloučenin fosforu ve výkalech byly anorganické fosfáty.

Tab. 1. Příjem krmiv, celkového a fytátového fosforu a stravitelnost živin u telat krmených mléčnou náhražkou (1. skupina), mléčnou náhražkou a startérem (2. skupina) a mléčnou náhražkou a silážovanými kukuřičnými palicemi (3. skupina).

	Skupina		
	1.	2.	3.
Věk telat (dny) ¹	88	84	88
Váha telat (kg) ¹	98,5	103,5	101,7
Příjem (g/den)			
mléčná náhražka	2043	2157	2186
startér	-	445	-
kukuřič. palice	-	-	393
celkový P	15,0 ^a	19,1 ^b	16,4 ^{ab}
fytátový P	1,3 ^a	2,5 ^b	1,4 ^{ab}
Stravitelnost (%)			
sušina	95,4	95,8	93,1
NL	93,3	93,4	89,1
celkový P	93,9	94,4	89,7
fytátový P	95,6	97,2	94,6

¹Na začátku bilance

^{a,b}P < 0,05

Tab. 2. Obsah fytátového, fosfátového a celkového fosforu a vápníku ve výkalech telat krmených mléčnou náhražkou (1. skupina), mléčnou náhražkou a startérem (2. skupina) a náhražkou se silážovanými palicemi (3. skupina).

	Skupina		
	1.	2.	3.
Věk telat (dny) ¹	88	84	88
Fytátový P (mg/g suš.)	0,94	0,76	0,64
Fosfátový P (mg/g suš.)	3,18	4,92	6,03
Celkový P (mg/g suš.)	10,4	10,1	9,9
Fytátový P/celkový P (%)	9,0	7,5	6,5
Fosfátový P/celkový P (%)	30,6 ^a	48,7 ^{ab}	60,9 ^b
Vápník (mg/g suš.)	16,1 ^{ab}	16,4 ^a	13,4 ^b

¹Na začátku bilance

^{a,b}P < 0,05

Lze tudíž shrnout, že i telata v období mléčné výživy využívají fosfor kyseliny fytové velmi účinně, navzdory skutečnosti, že bachorové trávení u nich není plně vyvinuto. Pouze několik % kyseliny fytové uniká rozkladu v jejich trávicím traktu.

8. Využití fosforu kyseliny fytové u prasat

U zvířat s jednoduchým žaludkem je využití fytátového fosforu obecně malé. Platí to i pro prasata. Duskova a kol. (2001) uvádí, že fosfor kyseliny fytové představoval 13,6 – 23,5% celkového P ve výkalech prasnic krmných koncentrátem, v němž tento podíl činil 39,3%. Údajů o využití fosforu kyseliny fytové u prasat je v literatuře nedostatek. Ta sestává v naprosté většině z prací, které pojednávají o zjevné fekální stravitelnosti fosforu (apparent total tract digestibility) a o vlivu, který má přídavek fytasy. Fytasa (nejčastěji Natuphos® od BASF) pochází většinou z *Aspergillus niger* a zpravidla se přidává v množství 600 – 800 U/kg. Walz a Pallauf (2003) např. uvádí, že mikrobiální fytasa zvýšila fekální stravitelnost P o 20% a snížila vyloučení fosforu do výkalů na 1 kg přírůstku hmotnosti o 33%. Rovněž zvýšila zjevnou stravitelnost Zn. Rozklad kyseliny fytové v trávicím traktu je snížen, zvýší-li se obsah Ca v krmné dávce (Sandberg a kol 1993). Příčinou je tvorba nerozpustného fytátu vápenatého. U prasat krmných referenční krmnou dávkou (ječmen, pšenice, sója, 8 g/kg CaCO₃) byla stravitelnost kyseliny fytové 72%. Po snížení obsahu vápníku převýšila 90%, po jeho zvýšení klesla na 42%. Účinnost přídavku fytasy tudíž klesá při vzrůstu poměru Ca/P (Seynaeve a kol. 2000a). Hlavním místem hydrolýzy kyseliny fytové je u prasat zadní část trávicího traktu, bohatě osídlená mikroorganismy. Po přídavku komerční fytasy do krmné směsi se hydrolýza v přední části trávicího traktu zvýšila trojnásobně (Seynaeve a kol. 2000b). Autoři upozorňují, že přídavek minerálních fosfátů do krmné směsi aktivitu fytasy v trávicím traktu snižuje. Jongbloed a kol. (1992) zjistili, že na úrovni ilea je u prasat stráveno nejvýše 10% kyseliny fytové. Po přídavku komerční fytasy z *Aspergillus niger* v množství 1500 U/kg krmiva se množství kyseliny fytové strávené před vstupem do zadních oddílů trávicího traktu zvýšilo na 60 – 74%, za současného snížení koncentrace P ve výkalech o 1/3. Přídavkem fytasy do krmné dávky selat se zabývali i naši autoři (Zobač a kol. 1997). Přídavek fytasy také zlepšuje využití vápníku (např. Zobač a kol. 1997, Jongbloed a kol. 2000, Traylor a kol. 2001), železa (Stahl a kol. 1999) a zinku (Pallauf a kol. 1994). Zlepšení stravitelnosti N-látek nebylo jednoznačně prokázáno. Účinek fytasy je třeba posuzovat v souvislosti se složením krmiva a fyziologickým stavem prasat. Řepkový šrot obsahuje např. 2x víc P a větší podíl P fytátu než sójový. Kukuřice, sójový a řepkový šrot mají nízkou fytasovou aktivitu, žito a pšenice naopak vysokou (Weremko a kol. 2001). Účinnost přídavku komerční fytasy klesala v pořadí:

prasnice v laktaci, prasata ve výkrmu, prasnice před porodem, březí prasnice (Kemme a kol. 1997). Na závěr možno uvést, že ve výživě prasat byly zkoušeny i fytasy jiného původu než z *Aspergillus niger*, konkrétně fytasa z řepky (Zhang a kol. 1998), kvasinky *Pichia pastoris* (Stahl a kol. 2000) a fytasa z bakterie *Escherichia coli* (Igbasan a kol. 2001).

9. Využití fosforu kyseliny fytové u králíků

Potrava králíků v intenzivních chovech je značně odlišná od té, kterou měli v přirozených podmínkách. Obsahuje velký podíl zrnin, vedlejších produktů mlýnského průmyslu a šrotů z olejnin. V těchto složkách krmných směsí je hlavní formou fosforu kyselina fytová. Její využití králíky bylo donedávna neznámé. Králík je na jednu stranu zvířetem s jednoduchým žaludkem, u nichž je stravitelnost kyseliny fytové nízká, na druhou stranu jde o býložravce s bohatým mikrobiálním osídlením zadní části trávicího traktu. Je zajímavé, že již mnohem dříve byla zjištěna využitelnost fytátového P u potkanů a křečků. Taylor a Coleman (1979) ji zjistili u čtyř krmiv s různým obsahem Ca a kyseliny fytové. U všech čtyř diet byla stravitelnost kyseliny fytové statisticky významně vyšší u křečků (73,9 - 87,7%) než u potkanů (32,6 - 66,1%). U králíků přijímajících komerční granulované krmivo Marounek a kol. (2000b) zjistili, že 4 - 11% P výkalů představuje fosfor kyseliny fytové. V bilančním pokuse Marounek a kol. (2003b) našli u králíků krměných dávkou s vysokým obsahem cereálií a dávkou s vysokým obsahem tzv. stravitelné vlákniny průměrnou stravitelnost kyseliny fytové 82,1% (Tab. 3).

Tab. 3. Stravitelnost kyseliny fytové a dalších živin u králíků věku 7 a 10 týdnů, krměných dietou s vysokým obsahem cereálií (I) a dietou s cukrovarskými řízky (II).

Stravitelnost (%)	Věk 7 týdnů		Věk 10 týdnů	
	Dieta I	Dieta II	Dieta I	Dieta II
Kyselina fytová	83,3	81,1	83,2	80,7
Celkový P	48,4	47,8	38,5*	32,4*
Sušina	65,5	65,7	64,5	65,7
NL	74,3	72,3	72,9	75,6
Popel	58,3	50,8	55,9*	47,5

*Signifikantní rozdíl mezi králíky různého věku ($P < 0,05$)

Jedná se o stravitelnost skutečnou - kyselina fytová totiž není součástí endogenních sekretů. Zjevná stravitelnost celkového fosforu byla pouze 48,1% u králíků věku 7 týdnů a 35,5% u králíků 10ti týdenních. Podíl fytátového P na celkovém P ve výkalech činil 9%, podíl P fosfátů 68%. Jak fytátový tak i fosfátový fosfor korelovaly s obsahem vápníku. Výkaly 10ti týdenních králíků obsahovaly signifikantně více celkového i fosfátového P než výkaly mladších králíků (Tab. 4).

Tab. 4. Frakce fosforu a vápník ve výkalech králíků věku 7 a 10 týdnů, krmených dietou s vysokým obsahem cereálií (I) a dietou s cukrovarskými řízky (II).

	Věk 7 týdnů		Věk 10 týdnů	
	Dieta I	Dieta II	Dieta I	Dieta II
Fytátový P (mg/g suš.)	1,12	1,23	1,09	1,30
Fosfátový P (mg/g suš.)	8,3	8,6	9,0*	10,2*
Celkový P (mg/g suš.)	11,9	11,9	13,9*	15,5*
Fytátový P/celkový P (%)	9,4	10,3	7,8	8,4
Fosfátový P/ celkový P (%)	69,7	72,3	64,7	65,8
Vápník (mg/g suš.)	16,9	17,0	16,6	17,3

*Signifikantní rozdíl mezi králíky různého věku ($P < 0,05$)

Ve věku 11 týdnů byli tito králíci poraženi, vzorky obsahu jednotlivých sekcí trávicího traktu byly zředěny fyziologickým roztokem s 2 mM fytátem sodným a inkubovány při 39°C. Slepé střevo obsahovalo 58,6% z celkové fytasové aktivity trávicího traktu, žaludek 22,3%, tlusté střevo 11,4% a tenké střevo 7,7% (Tab. 5). Fytasová aktivita mukosy tenkého střeva nebyla brána v úvahu, neboť je velmi malá (Cooper a Gowing 1983). Hydrolýza kyseliny fytové byla inhibována ionty vápenatými a v menší míře i fosfátovými. Při pH 5 - 6 probíhala rychleji než v blízkosti pH 7. Rovněž jsme zjistili, že komerční fytasa Natuphos® je vysoce aktivní i v prostředí obsahu žaludku při pH pouze 1,9.

Tab. 5. Distribuce fytasové aktivity v trávicím traktu 11ti týdenních králíků krmných dávkou s vysokým obsahem cereálií.

	Žaludek	Tenké střevo	Slepé střevo	Tlusté střevo
Váha zažitiny (g)	119,9	32,2	111,5	19,4
pH	1,45	7,27	6,20	6,58
Fytasová aktivita				
specifická ¹	1,16	1,49	3,28	3,68
celková ²	139	48	366	71

¹μmoly kys. fytové hydrolysované za 1 h/1g zažitiny

²μmoly kys. fytové hydrolysované za 1 h

Lze tudíž shrnout, že stravitelnost kyseliny fytové u králíků je vysoká, převyšující 80%. To je sice méně než u přežvýkavců, ale značně více než u prasat a drůbeže. Nevýhodou ovšem je, že 70% fytasové aktivity je soustředěno v zadních oddílech GIT, kde jsou podmínky omezující vstřebávání uvolněných fosfátových iontů (vysoká viskozita zažitiny, nízký poměr resorpční plochy střeva k objemu obsahu střeva, asi i malá koncentrace receptorů pro fosfát ve střevní stěně). U savců je hlavním místem vstřebání fosfátu duodenum a jejunum (Barlet a kol. 1995). Vstřebání fosfátu je řízeno a uplatňuje se jak složení potravy (vysoký či nízký obsah P), tak i faktory endokrinní. Lepší využití P krmiva u mladších králíků odráží větší potřebu P u rychle rostoucích zvířat. Ve hře jsou nepochybně faktory endokrinní (kalcitriol), neboť krmivo bylo stejné. Přídavek komerční fytasy do krmiva králíků lze proto doporučit. Umožní hydrolýzu kyseliny fytové na začátku trávicího traktu a následné vstřebání fosfátu v tenkém střevu. Přídavek krmných fosfátů do směsí pak nebude nutný.

10. Využití fosforu kyseliny fytové u drůbeže

Drůbež využívá fosfor kyseliny fytové jen omezeně, jeho využití kolísá v širokých mezích, od nuly do 50% (Ravindran a kol. 1995). Hydrolýzu kyseliny fytové v trávicím traktu drůbeže ovlivňuje celá řada faktorů. Především to je obsah vápníku v krmné směsi. Vápník hydrolýzu kyseliny fytové účinně inhibuje tvorbou nerozpustného fytátu vápenatého. Jeho vysoká koncentrace je však nutná, zejména u nosnic (tvorba skořápky). Je nutno počítat i

s tím, že vápník ve vysokých koncentracích brzdí i vstřebání uvolněného fosfátu (Applegate a kol. 2003a). Vitamin D₃ naopak dostupnost fosforu kyseliny fytové zlepšuje (Edwards 1993). Vitamin D₃ je prekursor hormonu kalcitriolu, který řídí vstřebání fosfátových iontů v tenkém střevu. Mechanismus působení však není přesně znám. Může to být stimulační účinek kalcitriolu na vstřebání vápenatých a fosfátových iontů, které hydrolyzu kyseliny fytové brzdí nebo snad zvýšená tvorba fytasy epithelu tenkého střeva. Věk ptáků se zdá být důležitější než pohlaví. Má větší význam u nosnic než u kuřecích brojlerů. Starší nosnice lépe hydrolyzují kyselinu fytovou, může to však být dáno i tím, že jsou těžší, tzn. v jejich trávicím traktu je větší množství fytasové aktivity (Ravindran a kol. 1995). Rovněž genotyp ptáků je významný. Zhang a kol. (2003) zjistili, že kuřata rychle rostoucích genotypů tráví kyselinu fytovou hůře, v důsledku rychlé pasáže zažitiny trávicím traktem. Kyselina fytová je poměrně termostabilní. Z různých úprav krmiv může její dostupnost zvýšit pouze peletování s použitím páry. Nutno však také vzít v úvahu, že současně dochází ke zničení rostlinných fytas, což působí kontraproduktivně a má význam tehdy, obsahuje-li peletovaná směs pšeničný šrot a otruby (Ravindran a kol. 1995)

Tabulka č. 6 uvádí koncentraci fytátového a celkového P ve výkalech, stravitelnost fytátového P a retenci celkového P u 10ti kuřecích brojlerů krměných směsí, která jako hlavní komponenty obsahovala sójovou mouku, kukuřici a pšenici (Skřivan a kol. 2002). V průměru 80,6% fytátového P a 40,4% celkového P přijatého potravou bylo nalezeno v exkrementech. Stravitelnost fosforu kyseliny fytové kolísala od 4,5 do 35,0%. Výsledky dokazují nízkou stravitelnost fosforu kyseliny fytové u 3-týdenních kuřat a velké individuální rozdíly u tohoto parametru. V navazujících pokusech jsme zjišťovali stravitelnost kyseliny fytové u nosnic věku 21 a 47 týdnů, krměných směsí, jejíž hlavní složky byly pšeničný a kukuřičný šrot a sójový extrahovaný šrot. V tabulce č. 7 jsou uvedeny stravitelnosti kyseliny fytové a složení výkalů, zjištěné v bilančním pokusu. Stravitelnost kyseliny fytové byla 38,7% u mladších a 47,3% u starších nosnic ($P > 0,05$). Exkrementy starších nosnic obsahovaly signifikantně více celkového a fosfátového P a méně vápníku než exkrementy mladších nosnic. Podíl fytátového P na celkovém P exkrementů byl u mladších nosnic signifikantně nižší. Obě věkové skupiny se lišily intenzitou snůšky (52% u mladších a 100% u starších nosnic).

Tab. 6. Koncentrace fytátového a celkového fosforu ve výkalech, stravitelnost fytátového a retence celkového fosforu u kuřecích brojlerů věku 3 týdny.

Kuře č.	Koncentrace ve výkalech ¹		Stravitelnost fytát. P (%)	Retence celk. P (%)
	fyátový P	celkový P		
1	6,23	7,22	21,3	72,8
2	3,52	7,15	18,2	57,1
3	6,14	7,98	14,3	67,6
4	5,13	7,36	24,6	38,4
5	4,23	7,11	32,3	66,0
6	6,88	8,73	35,0	73,0
7	7,35	9,71	4,5	28,6
8	5,69	9,04	4,5	74,1
9	5,40	8,10	19,6	59,5
10	8,53	10,03	19,5	58,9
Průměr ± SD	5,91 ± 1,47	8,24 ± 1,09	19,4 ± 10,1	59,6 ± 15,2

¹v mg/g sušiny

Tab. 7. Stravitelnost kyseliny fytové a složení výkalů u nosnic věku 21 a 47 týdnů.

	Věk	
	21 týdnů	47 týdnů
Hmotnost nosnic (g)	1560	1916*
Stravitelnost kyseliny fytové (%)	38,7	47,3
Složení výkalů		
fyátový P (mg/g suš.)	3,8	3,4
fosfátový P (mg/g suš.)	5,9	8,9*
celkový P (mg/g suš.)	12,3	14,8*
fyátový P/celkový P (%)	30,9	23,0*
fosfátový P/ celkový P (%)	48,0	60,1*
vápník (mg/g suš.)	78,1	63,0*

*Signifikantní vliv věku

Výsledky jsou v soulase s představou, že u starších nosnic s větší hmotností (potažmo delší dobou zdržení zažitiny v trávicím traktu) je P kyseliny fytové lépe využít. Nálezy odrážejí skutečnost, že mladší nosnice, s dosud neukončeným růstem, mají relativně vyšší potřebu fosforu a starší nosnice, s vysokou intenzitou snůšky mají vyšší potřebu vápníku. V žádném z obou uvedených pokusů nebyla do krmné směsi přidána fytasa.

Nedostatek stravitelného fosforu se u drůbeže řeší:

- a) přidavkem krmných fosfátů do směsí
- b) přidavkem komerční fytasy.

Nevýhodou prvního způsobu je to, že velké množství nestrávené kyseliny fytové přechází do kejdy, kde je kyselina fytová mikroorganismy rozložena. Uvolněné fosfáty se pak mohou dostat do povrchových vod, kde podpoří růst sinic. Přídavek fytasy je tudíž výhodný z více hledisek a použitím fytas ve výživě drůbeže se zabývá velké množství prací. Podobně jako u prasat i u drůbeže lze použít fytasy jiného původu než z aspergilů (např. Applegate a kol. 2003b). Účinek fytasy je vyšší u směsí s malým podílem nefytátového fosforu (Ravindran a kol. 2000). Většina autorů, kteří se účinkem přídavku fytasy do diet drůbeže zabývala, nezjišťovala stravitelnost kyseliny fytové, pouze na ni usuzovala z výsledků měření různých fyziologických parametrů (retence P krmiva, vyloučení P výkaly, hmotnost popele určité kosti a pod.). Rozhodující byl vždy produkční efekt. Nedostatek stravitelného fosforu vede vždy k nežádoucímu snížení užitkovosti u drůbeže i ostatních hospodářských zvířat. Použitím fytasy Natuphos® u drůbeže se u nás zabývali Zobač a kol. (1995).

11. Důsledky přítomnosti kyseliny fytové v potravinách

Kyseliny fytové je běžnou složkou naší stravy. Je obsažena v cereálních výrobcích a luštěninách. Špaňo (1992) a Prošková (1998) uvádí tyto obsahy kyseliny fytové v potravinářských výrobcích odebraných z naší obchodní sítě:

Pšeničná mouka celozrnná	1,07% sušiny
Vymílací mouky pšeničné	0,03 - 0,05% sušiny
Žitná mouka celozrnná	0,72% sušiny
Ovesné vločky	0,83% sušiny
Pohanka neloupaná	1,08% sušiny
Jáhly	0,28% sušiny
Chléb celozrnný pšeničný	0,30 - 0,40%

Chléb z bílé pšeničné mouky	0,015%
Luštěniny (viz kapitola 4)	0,50 - 1,50%
Burské oříšky (Reddy a Sathe 2002)	1,05 - 1,76

Na hydrolýze kyseliny fytové v trávicím traktu člověka se podílí fytasy rostlinného původu, fytasy mikroorganismů trávicího traktu i fytasy střevní sliznice. Bitar a kol. (1972) tvrdí, že hodnoty aktivit střevní slizniční fytasy u pěti vzorků humánního původu byly podobné jako u ostatních živočišných druhů. Iqbal a kol. (1994) toto nepotvrdili. Ani Zhou a Erdman (1995) tuto aktivitu nepokládají za významnou, na rozdíl od fytasy přijímané potravou. Přítomnost kyseliny fytové v potravě člověka má některé závažné důsledky, negativní i pozitivní.

11.1. Inhibiční účinek kyseliny fytové na dostupnost minerálních látek

O interakci mezi kyselinou fytovou a minerálními prvky je pojednáno v kapitole č. 6. Zde nutno zdůraznit, že význam působení kyseliny fytové na minerální metabolismus člověka roste, vzhledem k rostoucí oblibě cereálních přesnídávek, sójových bobů a oříšků. Problémy mohou nastat např. u vegetariánů, zejména bylo-li maso nahrazeno sójovými produkty, které jsou na kyselinu fytovou bohaté. Z toho důvodu vegetariánství, které může být určitým přínosem pro zdraví, není vhodné u těhotných a laktujících žen a u dětí. Kyselina fytová ovšem není jedinou složkou potravy, která ztěžuje využití minerálních prvků v rostlinách obsažených. Podobně působí i kyselina šťavelová, která má značnou afinitu k vápníku a železu, vláknina, která tvoří matici v níž jsou minerály vázány a její složka pektin, který váže minerály svými volnými karboxylovými skupinami. Uvedeným negativním účinkům lze předcházet vyváženým příjmem stravy živočišného původu. Peptidy, které vznikají v průběhu hydrolýzy živočišných bílkovin, zejména těch, které obsahují cystein, vstřebání minerálních látek podporují (podrobná diskuse by překročila rámec této studie, blíže viz Marounek a kol. 2003a).

11.2. Antioxidační účinky kyseliny fytové a vztah k intermediárnímu metabolismu

Kyselina fytová má vlastnosti antioxidantu. Je to dáno tím, že pevně váže železo a brání aby se účastnilo tzv. Fentonovy reakce, kterou vznikají hydroxylové radikály:



Hydroxylové radikály jsou velmi reaktivní a mohou poškodit všechny biologicky významné molekuly. Závažné je, že tyto radikály hydroxylojí nukleové báze, poškozují zápis

genetické informace a mohou iniciovat proces kancerogeneze. Kyselina fytová snižuje riziko vzniku kolorektálního karcinomu (Graf a Eaton 1993). Bylo zjištěno, že mezi výskytem rakoviny tlustého střeva a alimentárním příjmem kyseliny fytové existuje inverzní vztah (Zhou a Erdmann 1995). Rovněž chrání před některými záněty střev (Graf a Eaton 1990). Tím, že kyselina fytová brání Fentonově reakci, brání také oxidačnímu poškození skladovaných potravin. Perspektivně by se mohlo s kyselinou fytovou počítat jako s potravinovým aditivem, které chrání kyselinu askorbovou a lipidy před oxidací (Empson a kol. 1991). Rovněž brání enzymovému hnědnutí ovoce a zeleniny tím, že inhibuje polyfenoloxidasu (Graf a kol. 1987). Na rozdíl od tokoferolů, karotenů a kyseliny askorbové však kyselina fytová nedokáže vylučovat radikály již vzniklé v jiných reakcích. Nemá vliv na oxidační status v játrech (Rimbach a Pallauf 1998).

V pokusech na zvířatech bylo zjištěno, že přidáním kyseliny fytové do krmiva se významně sníží sérový cholesterol a triglyceridy. Tento účinek se přičítá rozdílnému vlivu kyseliny fytové na vstřebávání zinku a mědi. Kyselina fytová snižuje poměr Zn / Cu v séru, který při hypercholesterolemii bývá zvýšen. Jsou rovněž náznaky, že kyselina fytová brání vzniku ledvinových kamenů. Přehledně o těchto problémech pojednávají Zhou a Erdman (1995).

Inositol vzniklý hydrolýzou kyseliny fytové je v organismu využit k syntéze fosfolipidů. Pro svůj velký význam je někdy *myo*-inositol považován za sloučeninu blízkou vitaminům. Fosfatidylinositol-4,5-difosfát je důležitou složkou buněčných membrán. Po stimulaci vhodným hormonem je štěpen na diacyl-glycerol a inositoltrifosfát, což jsou sloučeniny, které působí jako tzv. druhý posel při přenosu signálu, který hormon přináší. Inositolfosfáty mají v organismu řadu dalších úloh, např. při aktivaci krevních destiček, při obraně vůči bakteriální infekci, přenosu nervového vzruchu a pod. (Zhou a Erdman 1995). Většina ¹⁴C kyseliny fytové podané krysám v krmivu s nízkým obsahem Ca se nakonec přemění na ¹⁴CO₂ (Nahapetian a Young 1980). Kyselinu fytovou lze v malém množství nalézt v různých živočišných tkáních. Soudí se, že je nejen prekursorem nižších inositolfosfátů, ale že se na regulaci některých fyziologických pochodů přímo podílí (Grases a kol. 2001). U potkanů byla nalezena v nejvyšší koncentraci v mozku (60 µg/g sušiny) a v nejnižší v krvi (0,3 µg/ml). U potkanů, kteří přijímali potravu bez kyseliny fytové, nebyla tato v tkáních přítomna a docházelo k některým patologickým procesům, zejména kalcifikaci ledvin. Kalcifikace renální tkáně nenastala, když kyseliny fytové byla do diety potkanů dodána.

12. Závěr

Kyselina fytová je jednoznačně antinutriční látkou pouze u zvířat. Je důvodem nízké stravitelnosti fosforu obsaženého v obilí, luštěninách a olejninách u prasat a drůbeže. V místech s velkým rozšířením jejich chovů je špatná stravitelnost kyseliny fytové hlavní příčinou znečištění povrchových vod fosfáty. V místech s malou intenzitou živočišné výroby není toto znečištění natolik podstatné, problém nízkého využití fytátového fosforu zvířaty je však přesto nutno řešit. Převážně se tak děje přidavkem mikrobiální fytasy do krmné směsi. Alternativou je šlechtění plodin na nízký obsah fytátu. Kultivary s nízkým podílem fosforu kyseliny fytové již byly zkoušeny u drůbeže (Ceylan a kol. 2003) i prasat (Thacker a kol. 2004). Je pak pouze otázkou ekonomického porovnání, bude-li výhodnější první nebo druhý způsob. Ve výživě lidí přijímajících smíšenou stravu je přítomnost kyseliny fytové v potravě spíše prospěšná nežli škodlivá. Kyselina fytová je antioxidant, snižuje riziko kolorektálního karcinomu a má příznivý vliv na lipidový metabolismus. Brání vzniku ledvinových kamenů a je prekursorem derivátů inositolu s významnými fyziologickými funkcemi. Zápornou roli má pouze v situaci, kdy její vysoký alimentární příjem je spojen s nízkým příjmem zinku, železa a vápníku.

Řadu problémů, které přítomnost kyseliny fytové v krmivech a potravinách přináší, se již podařilo vyřešit. Je např. zřejmé, za jakých okolností a v jakém množství se má mikrobiální fytasa přidávat do krmných směsí. Ve výživě zvířat zbývá objasnit distribuci fytasové aktivity v trávicím traktu drůbeže, určit podíl fytas endogenního a exogenního původu na hydrolýze kyseliny fytové a rozhodnout, zda je výhodnější použít přídavek komerční fytasy, či se orientovat na komponenty s nízkým obsahem kyseliny fytové nebo s vysokou přirozenou fytasovou aktivitou. Vliv přídavku fytasy na stravitelnost N-látek zůstává nejasný. Závěry různých autorů nejsou jednoznačné. Také dosud nebyla zjištěna identita mikroorganismů, které rozkládají kyselinu fytovou v trávicím traktu zvířat s jednoduchým žaludkem. Měla by se lépe poznat úloha kyseliny fytové ve výživě člověka, více objasnit její interakce s dalšími složkami potravy a v epidemiologických studiích upřesnit úloha kyseliny fytové v prevenci civilizačních onemocněních.

13. Literatura

- Anderson, R.J. (1912) Phytin and phosphoric acid esters of inosite. *J. Biol. Chem.* 11, 471.
- Anderson, R.J. (1914) A contribution to the chemistry of phytin. *J. Biol. Chem.* 17, 171.
- Applegate, T.J., Angel, R., Classen, H.L. (2003a) Effect of dietary calcium, 25-hydrocholecalciferol, or bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. *Poultry Sci.* 82, 1140-1148.
- Applegate, T.J., Webel, D.M., Lei, X.G. (2003b) Efficacy of a phytase derived from *Escherichia coli* and expressed in yeast on phosphorus utilization and bone mineralization in turkey poults. *Poultry Sci.* 82, 1726-1732.
- Bae, H.D., Yanke, L.J., Cheng, K.-J., Selinger, L.B. (1999) A novel staining method for detecting phytase activity. *J. Microbiol. Methods* 39, 17-22.
- Barlet, J.P, Davicco, M.J., Coxam, V. (1995) Intestinal absorption of inorganic phosphorus. *Reprod. Nutr. Dev.* 35, 475 – 489.
- Bitar, K., Reinhold, J.G. (1972) Phytase and alkaline phosphatase activities in intestinal mucosae of rat, chicken, calf, and man. *Biochim. Biophys. Acta* 268, 442-452.
- Blatny, P., Kvasnicka, F., Kenndler, E. (1995) Determination of phytic acid in cereal grains, legumes, and feeds by capillary isotachopheresis. *J. Agric. Food Chem.* 43, 129-133.
- Ceylan, N., Scheideler, S.E., Stilborn, H.L. (2003) High available phosphorus corn and phytase in layer diets. *Poultry Sci.* 82, 789-795.
- Clark, W.D., Jr., Wohlt, J.E., Gilbreath, R.L., Zajac, P.K. (1986) Phytate phosphorus intake and disappearance in the gastrointestinal tract of high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 69, 3151-3155.
- Cooper, J.R, Gowing, H.S (1983) Mammalian small intestinal phytase (*EC* 3.1.3.8). *Br. J. Nutr.* 50, 673 – 678.
- Dušková, D., Dvořák, R., Rada, V., Doubek, J., Marounek, M. (2001) Concentration of phytic acid in faeces of calves fed starter diets. *Acta Vet.Brno* 70, 381-385.
- Duskova, D., Marounek, M., Brezina, P. (2001) Determination of phytic acid in feeds and faeces of pigs and poultry by capillary isotachopheresis. *J. Sci. Food Agric.* 81, 36 – 41.
- Dvořáková, J. (1998) Phytase: sources, preparation and exploitation. *Folia Microbiol.* 43, 323-338.
- Edwards, H.M., Jr. (1993) Dietary 1,25–dihydrocholecalciferol supplementation increases natural phytate phosphorus utilization in chickens. *J. Nutr.* 123, 567-577.

- Erdman, J.W., Jr. (1979) Oilseed phytates: nutritional implications. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 56, 736-741.
- Graf, E., Eaton, J.W. (1990) Antioxidant functions of phytic acid. *Free Radic. Biol. Med.* 8, 61-69.
- Graf, E., Eaton, J.W. (1993) Suppression of colonic cancer by dietary phytic acid. *Nutr. Cancer* 19, 11-19.
- Graf, E., Empson, K.L., Eaton, J.W. (1987) Phytic acid. A natural antioxidant. *J. Biol. Chem.* 262, 11647-11650.
- Grases, F., Simonet, B.M., Prieto, R.M., March, J.G. (2001) Phytate levels in diverse rat tissues: influence of dietary phytate. *Br. J. Nutr.* 86, 225-231.
- Harland, B.F., Narula, G. (1999) Food phytate and its hydrolysis products. *Nutr. Res.* 19, 947-961.
- Hartig, T. (1855) Über das Klebermehl. *Bot. Ztg.* 13, 881.
- Hatzack, F., Johansen, K.S., Rasmussen, S.K. (2000) Nutritionally relevant parameters in low-phytate barley (*Hordeum vulgare* L.) grain mutants. *J. Agr. Food Chem.* 48, 6074-6080.
- Haug, W., Lantsch, H.-J. (1983) Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J. Sci. Food Agric.* 34, 1423-1426.
- Heubner, W., Stadler, H. (1914) Über eine titrationmethode zur Bestimmung des Phytins. *Biochem. Z.* 64, 422-437.
- Chen, J.C. (1998) Novel screening method for extracellular phytase-producing microorganisms. *Biotechnol. Tech.* 12, 759-761.
- Igbasan, F.A., Simon, O., Miksch, G., Manner, K. (2001) The effectiveness of *Escherichia coli* phytase in improving phosphorus and calcium bioavailabilities in poultry and young pigs. *Arch. Anim. Nutr.* 54, 117-126.
- Iqbal, T.H., Lewis, K.O., Cooper, B.T. (1994) Phytase activity in the human and rat small intestine. *Gut* 35, 1233-1236.
- Jongbloed, A.W., Mroz, Z., Kemme, P.A. (1992) The effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diets for pigs on concentration and apparent digestibility of dry matter, total phosphorus, and phytic acid in different sections of the alimentary tract. *J. Anim. Sci.* 70, 1159-1168.
- Jongbloed, A.W., Mroz, Z., Van der Weij-Jongbloed, R., Kemme, P.A. (2000) The effects of microbial phytase, organic acids and their interaction in diets for growing pigs. *Livestock Prod. Sci.* 67, 113-122.

- Kemme, P.A., Jongbloed, A.W., Mroz, Z., Beynen, A.C. (1997) The efficacy of *Aspergillus niger* phytase in rendering phytate phosphorus available for absorption in pigs is influenced by pig physiological status. *J. Anim. Sci.* 75, 2129-2138.
- Kerovuo, J., Lauraeus, M., Nurminen, P., Kalkkinen, N., Apajalahti, J. (1998) Isolation, characterization, molecular gene cloning, and sequencing of a novel phytase from *Bacillus subtilis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2079-2085.
- Kim, D.H., Oh, B.C., Choi, W.C., Lee, J.K., Oh, T.K. (1999) Enzymatic evaluation of *Bacillus amyloliquefaciens* phytase as a feed additive. *Biotechnol. Lett.* 21, 925-927.
- Konishi, C., Matsui, T., Park, W., Yano, H., Yano, F. (1999) Heat treatment of soybean meal and rapeseed meal suppresses rumen degradation of phytate phosphorus in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 80, 115-122.
- Marounek, M., Březina, P., Šimůnek, J. (2003a) Fyziologie a hygiena výživy. Skripta VVŠPV Vyškov.
- Marounek, M., Duskova, D., Skřivanova, V. (2000a) Isotachophoretic determination of phytate phosphorus in faeces of cattle, pigs and hens. *Reprod. Nutr. Dev.* 40, 223.
- Marounek, M., Dušková, D., Skřivanová, V. (2003b) Hydrolysis of phytic acid and its availability in rabbits. *Br. J. Nutr.* 89, 287-294.
- Marounek, M., Dušková, D., Skřivanová, V., Savka, O.G. (2000b) Isotachophoretic determination of phytic acid in the feed and faeces of rabbits. *Wld Rabbit Sci.* 8 (Suppl. 1), 321 – 326.
- Morse, D., Head, H.H, Wilcox, C.J (1992) Disappearance of phosphorus in phytate from concentrates *in vitro* and from rations fed to lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75, 1979–1986.
- Nahapetian, A., Young, V.R. (1980) Metabolism of ¹⁴C-phytate in rats: effect of low and high dietary calcium intakes. *J. Nutr.* 110, 1458-1472.
- Nelson, T.S., Daniels, L.B., Hall, J.R., Shields L G. (1976) Hydrolysis of natural phytate phosphorus in the digestive tract of calves. *J. Anim. Sci.* 42, 1509-1512.
- Pallauf, J., Rimbach, G., Pippig, S., Schindler, B., Hohler, D., Most, E. (1994) Dietary effect of phytogenic phytase and an addition of microbial phytase to a diet based on field beans, wheat, peas and barley on the utilization of phosphorus, calcium, magnesium, zinc and protein in piglets. *Z. Ernährungswiss.* 33, 128-135.
- Pallauf, J., Rimbach, G. (1997) Nutritional significance of phytic acid and phytase. *Arch. Anim. Nutr.* 50, 301 – 319.

- Park, W.-Y., Matsui, T., Yano, F., Yano, H. (2000) Heat treatment of rapeseed meal increases phytate flow into the duodenum of sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 88, 31-37.
- Prošková, A. (1998) Stanovení obsahu kyseliny fytové v potravinářských surovinách rostlinného původu. *Czech J. Food Sci.* 16, 215-220.
- Raun, A., Cheng, E., Burroughs, W. (1956) Phytate phosphorus hydrolysis and availability to rumen microorganisms. *Agr. Food Chem.* 4, 869–871.
- Ravindran, V., Bryden, W.L., Kornegay, E.T. (1995) Phytates: occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. *Poultry Avian Biol. Rev.* 6, 125–143.
- Ravindran, V., Cabahug, S., Ravindran, G., Selle, P.H., Bryden, W.L. (2000) Response of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non-phytate phosphorus levels. II. Effects on apparent metabolisable energy, nutrient digestibility and nutrient retention. *Br. Poultry Sci.* 41, 193–200.
- Reddy, N.R., Sathe, S.K. (2002) *Food Phytates*. CRC Press, London.
- Reddy, N.R., Sathe, S.K., Salunkhe, D.K. (1982) Phytates in legumes and cereals. *Adv. Food Res.* 28, 1–92.
- Reid, R.L., Franklin, M.C., Hallsworth, E.G. (1947) The utilization of phytate phosphorus by sheep. *Austr. Vet. J.* 23, 136.
- Rimbach, G., Brandt, K., Most, E., Pallauf, J. (1995) Supplemental phytic acid and microbial phytase changes zinc bioavailability and cadmium accumulation in growing rats. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 9, 117-122.
- Rimbach, G., Pallauf, J. (1998) Phytic acid inhibits free radical formation in vitro but does not affect liver oxidant or antioxidant status in growing rats. *J. Nutr.* 128, 1950-1955.
- Rimbach, G., Pallauf, J., Walz, O.P. (1996) Effect of microbial phytase on cadmium accumulation in pigs. *Arch. Anim. Nutr.* 49, 279-286.
- Rimbach, G., Walter, A., Most, E., Pallauf, J. (1998) Effect of microbial phytase on zinc bioavailability and cadmium accumulation in growing rats. *Food Chem. Toxicol.* 36, 7-12.
- Sandberg, A.S., Larsen, T., Sandström, B. (1993) High dietary calcium level decreases colonic phytate degradation in pigs fed a rapeseed diet. *J. Nutr.* 123, 559–566.
- Seynaeve, M., Janssens, G., Hesta, M., Van Nevel, C., De Wilde, R.O. (2000a) Effects of dietary Ca/P ratio, P level and microbial phytase supplementation on nutrient digestibilities in growing pigs: precaecal, post-ileal and total tract disappearances of OM, P and Ca. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 83, 36–48.
- Seynaeve, M., Janssens, G., Hesta, M., Van Nevel, C., De Wilde, R.O. (2000b) Effects of dietary Ca/P ratio, P level and microbial phytase supplementation on nutrient digestibilities

- in growing pigs: breakdown of phytic acid, partition of P and phytase activity along the intestinal tract. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 83, 193-204.
- Shirai, K., Revah-Moiseev, S., García-Garibay, M., Marshall, V.M. (1994) Ability of some strains of lactic acid bacteria to degrade phytic acid. *Lett. Appl. Microbiol.* 19, 366-369.
- Skřivan, M., Kalachnyuk, G.I., Dušková, D., Skřivanová, V., Savka, O.G., Marounek, M. (2002) Digestibility of phytate phosphorus in broiler chickens determined by isotachophoretic method. *Sci. Mess. of Lviv State Acad. Vet. Med.* 4, 38-42.
- Skřivanova, V., Marounek, M., Dvorak, R. (2004) Digestibility of total and phytate phosphorus in young calves. *Vet. Med. - Czech* 49, 191-196.
- Stahl, C.H., Han, Y.M., Roneker, K.R., House, W.A., Lei, X.G. (1999) Phytase improves iron bioavailability for hemoglobin synthesis in young pigs. *J. Anim. Sci.* 77, 2135-2142.
- Stahl, C.H., Roneker, K.R., Thornton, J.R., Lei, X.G. (2000) A new phytase expressed in yeast effectively improves the bioavailability of phytate phosphorus to weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 78, 668-674.
- Szkudelski, T. (1995) How does phytic acid decrease the absorption of elements in the digestive tract. *J. Anim. Feed Sci.* 4, 77-82.
- Špaňo, M. (1992) Isotachoforetické stanovení kyseliny fytové, VŠCHT Praha, diplomová práce.
- Taylor, T.G., Coleman, J.W. (1979) A comparative study of the absorption of calcium and the availability of phytate phosphorus in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*) and the laboratory rat. *Br. J. Nutr.* 42, 113 – 119.
- Traylor, S.L., Cromwell, G.L., Lindemann, M.D., Knabe, D.A. (2001) Effects of level of supplemental phytase on ileal digestibility of amino acids, calcium, and phosphorus in dehulled soybean meal for growing pigs. *J. Anim. Sci.* 79, 2634-2642.
- Thacker, P.A., Rossnagel, B.G., Raboy, V. (2004) Effect of phytase supplementation on phosphorus digestibility in low-phytate barley fed to finishing pigs. *Arch. Anim. Nutr.* 58, 61-68.
- Tsao, G.T., Zheng, Y., Lu, J., Gong, C.S. (1997) Adsorption of heavy metal ions by immobilized phytic acid. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 63-65, 731-741.
- Vohra, P., Gray, G.A., Kratzer, F.H. (1965) Phytic acid-metal complexes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 120, 447-449.
- Walz, O.P., Pallauf, J. (2003) The effect of the combination of microbial phytase and amino acid supplementation of diets for finishing pigs on P and N excretion and carcass quality. *Arch. Anim. Nutr.* 57, 413-428.

- Weremko, D., Fandřejewski, H., Raj, S., Skiba, G. (2001) Enzymatic efficiency of plant and microbial phytase in cereal-rape seed diets for growing pigs. *J. Anim. Feed Sci.* 10, 649-660.
- Wise, A. (1983) Dietary factors determining the biological activities of phytate. *Nutr. Abstr. Rev.* 53, 791-806.
- Wise, A., Gilbert, D.J. (1982) Phytate hydrolysis by germfree and conventional rats. *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 753-756.
- Yanke, L.J., Bae, H.D., Selinger, L.B., Cheng, K.-J. (1998) Phytase activity of anaerobic ruminal bacteria. *Microbiol.* 144, 1565– 573.
- Yanke, L.J., Selinger, L.B., Cheng, K.-J. (1999) Phytase activity of *Selenomonas ruminantium* a preliminary characterization. *Lett. Appl. Microbiol.* 29, 20-25.
- Zamudio, M., Gonzáles, A., Medina, J.A. (2001) *Lactobacillus plantarum* phytase activity is due to non-specific acid phytase. *Lett. Appl. Microbiol.* 32, 181-184.
- Zhang, W., Aggrey, S.E., Pesti, G.M., Edwards, H.M., Jr., Bakalli, R.I. (2003) Genetics of phytate phosphorus bioavailability: heritability and genetics correlations with growth and feed utilization traits in a randombred chicken population. *Poultry Sci.* 82, 1075-1079.
- Zhang, Z.B., Kornegay, E.T., Veit, H.P. (1998) Comparison of genetically engineered microbial and plant phytase for young pigs. *J. Anim. Sci.* 76 (Suppl. 1), abstract 688.
- Zhou, J.R., Erdman, J.W., Jr. (1995) Phytic acid in health and disease. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35, 495-508.
- Zobač, P., Kumprecht, I., Šimeček, K. (1995) The application of enzyme phytase in feed mixtures for reduction of the phosphorus content in poultry faeces. *Živ. Vým.* 40, 119-128.
- Zobač, P., Kumprecht, I., Šimeček, K. (1997) The effect of microbial phytase in feed mix for early weaning on phosphorus and calcium digestibility and utilization in piglets. *Živ. Vým.* 42, 367-373.