

## ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА І ПЕРЕРОБКИ ПРОДУКЦІЇ ТВАРИННИЦТВА

УДК 636.087.8

<sup>1</sup>РЕШЕТНІЧЕНКО О.П.

<sup>2</sup>КРЮКОВ В.С.

<sup>3</sup>АНТОНЕНКО П.П.

<sup>1</sup>ТАРАСЕНКО Л.А.

<sup>4</sup>ГЛЄБОВА І.В.

<sup>5</sup>ЗІНОВ'ЄВ С.В.

<sup>1</sup>ПІВЕНЬ О.Т.

<sup>4</sup>АНТІПОВ А.А.

<sup>3</sup>МИЛОСТИВИЙ Р.В.

<sup>1</sup> *Одеський державний аграрний університет*

<sup>2</sup> *ТОВ «Ветфармстандарт»*

<sup>3</sup> *Дніпровський державний аграрно-економічний університет*

<sup>4</sup> *ФДБОУ ВО Курська державна сільськогосподарська академія*

<sup>5</sup> *ФНЦ «Всеросійський науково-дослідний і технологічний*

*інститут птахівництва» РАН*

antonenko1946@i.ua

### АНТИПОЖИВНА ДІЯ ФІТАТІВ – ЕКСТРАФОСФОРНИЙ ЕФЕКТ ФІТАЗИ

Збільшення продукції тваринництва і птахівництва може бути досягнуто за ефективного використання кормів, у тому числі рослинних. Однак відомо, що до складу кормів рослинного походження входять антипоживні речовини (фітинова кислота або її солі), що знижує доступність наявних у раціоні поживних речовин. З огляду на це, метою огляду був опис дії фітатів в організмі і обґрунтування вибору кормових фітаз для кормовиробництва. Фосфор відповідає за надходження енергії для обмінних процесів в організмі, відіграє важливу роль в обміні білків, жирів і вуглеводів, у синтезі ферментів, гормонів, вітамінів, разом з кальцієм він забезпечує стабільність скелету тварин. Однак переважна частина фосфору в рослинних кормах недоступна для тварин, оскільки вона представлена фітатами, які не розщеплюються в шлунково-кишковому тракті (ШКТ). Фітати, потрапляючи в кисле середовище шлунка, іонізуються і вступають у реакції з позитивно зарядженими мінералами, білками, амінокислотами, утворюючи сполуки, недоступні для подальшого перетравлення. Доступність фосфору з фітатів забезпечується введенням до корму фітази, яка не тільки розщеплює фітати, а й зменшує їх антипоживну дію в результаті зниження концентрації. Сучасні дані свідчать про те, що фітати містять у своїй основі важкорозчинний фосфор та ускладнюють використання інших біологічно активних поживних речовин корму. Збагачення раціону мікробною фітазою робить більш доступними кальцій, цинк і мідь, покращує перетравність корму і стимулює приріст живої маси. Визначення активності фітази лабораторним методом не дає змоги зробити висновок про очікувану її ефективність за використання в кормах для тварин. Проведення таких складних досліджень із застосуванням динамічного моделювання процесів травлення в лабораторних умовах нині практично неможливе. Рішення про доцільність включення фітази в корми приймають на підставі виробничих випробувань пропонованих препаратів.

**Ключові слова:** корми для тварин, ферменти, фітаза, антипоживна дія фітатів, екстрафосфорний ефект фітази, активність кормових препаратів фітази.

doi: 10.33245/2310-9289-2019-147-1-06-23

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** У рослинних кормах приблизно 70 % фосфору міститься в складі фітатів, які є його резервною формою для рослин. Однак у шлунково-кишковому тракті (ШКТ) тварин з рослинної сировини доступним є не більш як 30 % фосфору. У насінні рослин під час проростання активуються власні фітази, які відщеплюють фосфатні групи від фітатів для подальшого включення в метаболізм рослин. Щоб тварини могли використовувати фосфор з фітатів, у корми додають ферментні препарати, що міс-

тять фітази. Вперше про її позитивну дію на тварин стало відомо на початку 60-х років минулого століття, однак лише через три десятиліття з'явився перший комерційний препарат, який набув великого поширення. Це збіглося з істотним подорожчанням мінеральних джерел фосфору, а також заборонаю в європейських країнах використання кормового борошна тваринного походження.

Ретельне вивчення дії фітатів на травлення дало змогу встановити, що вони не тільки містять важкодоступний фосфор, а й гальмують використання інших поживних речовин [1–2]. Фітати, розчиняючись у кислому середовищі шлунка, перетворюються в аніони фітинової кислоти, які, вступаючи у взаємодію з білком корму, утворюють сполуки, недоступні для перетравлення ферментами тварин [3]. Крім того, йони фітинової кислоти утворюють нерозчинні хелати з катіонами цинку, кальцію, знижуючи їх доступність в організмі. Ці властивості пов'язують з антипоживною дією фітатів.

Проблема забезпечення тварин фосфором пов'язана з його низькою доступністю з рослинної сировини, в якій він присутній в основному в складі фітатів. Це зумовлює необхідність включення в корми мінеральних джерел фосфору, ресурс яких у глобальному аспекті обмежений [4–5]. Збільшення вмісту фосфору в раціоні призводить до зростання вартості комбікормів, а також підвищеного виділення фосфору з калом, що супроводжується забрудненням навколишнього середовища, включаючи джерела води [6].

**Метою огляду** є опис дії фітатів в організмі і обґрунтування вибору кормових фітаз для використання в кормовиробництві.

Сьогодні кормові препарати фітази отримують шляхом мікробіологічного синтезу. Виявлено безліч активних продуцентів фітази серед мікроскопічних грибів і бактерій, частину з яких використовували для виробництва комерційних препаратів [7–8]. Утворені ними фітази різняться за біологічними властивостями і ефективністю застосування в тваринництві. Незважаючи на різноманіття препаратів, єдиною основною функцією фітаз є відщеплення фосфату від фітатів, що перетворює їх у форму, доступну для всмоктування в ШКТ. Фітати включають різноманітні сполуки, що містять у своєму складі фітинову кислоту (ФК), яка є вільною формою міо-інозитол-гексафосфату (ІФ<sub>6</sub>). Вона включає 6 фосфатних груп (H<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>)<sup>-</sup>, з'єднаних з циклічним спиртом інозитолом.

**Фітати кормів.** Описуючи субстрати фітази, використовують терміни «фітат», «фітин» і «фітинова кислота». «Фітати» відображають збірне поняття, що включає безліч речовин, які об'єднують присутність у них фітинової кислоти. Найчастіше в наукових публікаціях зустрічається назва «фітат», яка відноситься до різноманітних сполук, що включають ФК. З терміном «фітин» пов'язують депонований у насінні рослин комплекс ІФ<sub>6</sub> з калієм, магнієм і кальцієм. Аналізуючи щорічний світовий уміст фітатів у заготівельному зерні та фруктах, підраховали, що він становить приблизно 51 млн тонн, у тому числі 35 млн тонн фітинової кислоти, що містить 9,9 млн тонн фосфору, 12,5 млн тонн зв'язаного калію і приблизно 3,9 млн тонн магнію, які є важкодоступними для використання тваринами. Відтак, основними природними фітатами рослин є комплекси магнію, кальцію і калію з фітиновою кислотою [9–10]. Незалежно від абсолютної концентрації фітатів у зерні злаків, від загального фосфору на відносну частку у вигляді фітатів припадає 61–72 %. Водночас у продуктах переробки олійних культур цей діапазон ширший.

Селекція рослин на підвищення вмісту протеїну в зерні супроводжується високою позитивною кореляцією між вмістом протеїну і концентрацією ФК та загального фосфору [11]. ФК є складним ефіром шестиатомного спирту інозитолу і ортофосфорної кислоти. Із ряду ізомерів у природі найчастіше зустрічається *D-mio*-інозитол-1, 2, 3, 4, 5, 6-гексакісдигідрофосфорної кислоти (ІФ<sub>6</sub> або ІР<sub>6</sub>). Кожна фосфатна група має два атоми водню, здатні до дисоціації. Шість атомів виявляють сильні кислотні властивості – рН 1,5, у інших кислотні властивості виражені слабше [12]. Виходячи з реакційної активності фосфатних груп, ФК може вступати в реакції з різноманітними речовинами, утворюючи безліч хімічних сполук, які повною мірою ще не вивчено. Іноді зазначають, що антипоживна дія ФК і фітатів пов'язана з низькою доступністю фосфору, що не є вірним, оскільки свідчить лише про обмежену доступність фосфору і не пов'язане з антипоживними властивостями. Тому фахівці розмежовують антипоживну дію фітатів з їх властивостями, що пов'язані з низькою доступністю з них фосфору [13].

Фітати, потрапляючи в кисле середовище шлунка, розчиняються і набувають негативного заряду, завдяки чому вони вступають у реакцію з позитивно зарядженими йонами, до яких на-

лежать біогенні двовалентні метали ( $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+/3+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ). Утворені сполуки під час переміщення в кишечник втрачають розчинність і в результаті стають недоступними для всмоктування. Залежно від складу раціону, видових і вікових особливостей травлення фітати можуть спричиняти дефіцит кальцію, цинку, знижувати доступність амінокислот і зменшувати використання енергії корму [14–16]. Під дією фітази фітинова кислота втрачає частину фосфатних груп, і утворюються сполуки, які не можуть утримувати раніше зв'язані мінеральні речовини, білки і амінокислоти.

Існують дані, які підтверджують, що фітати знижують ефективність використання протеїну і енергії кормів, проте ці факти не отримали наукового пояснення. Донині помилково вважають, що під дією фітази підвищується перетравність протеїну [17]. Ці висновки зроблено виходячи з результатів балансових дослідів, помилково ототожнюючи фізіологічний процес перетравлення поживних речовин з процесом всмоктування [18]. Складність полягає в тому, що склад хімусу в ШКТ змінюється по ходу його переміщення, змінюється розчинність фітатів і кислотність середовища, необхідні для прояву фітазою оптимальної активності. Умови в ШКТ залежать від споживання корму, води і секреції соляної кислоти в шлунку, бікарбонатів у дванадцятипалій кишці і зміни рН середовища, що впливає на перетравлення і всмоктування всіх поживних речовин. Зниження їх використання за впливу фітатів змінюється залежно від складу раціонів і віку тварин. Вивчення цих процесів ускладнене тим, що динамічне моделювання процесу травлення в лабораторних умовах неможливе. Це виключає можливість з'ясування важливих деталей його перебігу для кращого розуміння. Спочатку фітази розглядали тільки як фермент, призначений для підвищення доступності фосфору, з чим пов'язували покращення продуктивності тварин [19–20].

Антипоживна дія фітатів проявляється зниженням використання поживних речовин корму. Вони можуть утворювати важкоперетравні комплекси з білками і крохмалем. Визначити компоненти сировини з низьким умістом фітатів або їх відсутністю – економічно не виправдане завдання. Інший шлях досягнення поставленої мети – зниження вмісту в кормах фітатів шляхом застосування ферменту, що їх руйнує. Сьогодні на ринку сировини пропонують різні кормові препарати фітази, які різняться за механізмами дії, проявом активності в різних відділах шлунково-кишкового тракту.

Під час розщеплення фітатів утворюються вільні йони фосфату, які доступні для всмоктування, і в значній кількості – ефіри інозитолфосфату з меншим умістом фосфатних груп. Це зумовлює зниження негативного заряду молекул фітатів, і в результаті – втрату здатності блокувати травлення білків і всмоктування амінокислот і мінералів. Цей феномен назвали екстрафосфорною дією фітази [21], хоча вона не пов'язана з прямою дією фітази, а обумовлена зниженням умісту реакційно-активних фітатів у хімусі. Це підтверджено спостереженнями на курчатах-бройлерах за згодовування корму, що не містить фітатів, в якому єдиним джерелом білка був легкоперетравний казеїн. Додавання в корм фітату натрію знижувало перетравність казеїну з 85 до 2 % і в цілому сухих речовин – до 37 %. Зменшення кількості введеної фітази в 2 рази зумовлювало підвищення перетравності казеїну і сухих речовин. За включення в корм 1000 одиниць/кг фітази, на тлі введеного до нього фітату натрію, спостерігали подальше зростання перетравності протеїну. Дослідники вважають, що аналогічна дія фітатів проявляється у птиці, яка отримує звичайний раціон [22]. У цьому модельному досліді доведено: 1) відбувається пригнічення перетравності протеїну під впливом фітатів; 2) фітаза за відсутності фітатів не підвищує перетравність протеїну, оскільки не має протеолітичних властивостей; 3) фітаза значною мірою пригнічує гальмівну дію фітатів.

Вплив фітатів і фітази на доступність амінокислот у кормі в практичних умовах буде змінюватися залежно від вмісту фітатів і ряду інших чинників, а також властивостей кормової фітази. У таблиці 1 наведено середні величини змін доступності амінокислот протеїну корму, і можливі її відхилення від середньої величини за використання однієї й тієї самої фітази [23].

Опубліковано сотні повідомлень про позитивну дію фітази на доступність амінокислот, однак узагальнення великої кількості публікацій свідчить, що бажані результати досить нестійкі [24]. Підкреслимо, що єдиною властивістю фітази є розщеплення фітатів, яке супроводжується підвищенням доступності фосфору в ШКТ. Екстрафосфорний ефект, який приписують фітазі, обумовлений перетворенням фітатів у сполуки, які не здатні блокувати інші поживні речовини,

присутні в хімісі. Таким чином, він не прямо пов'язаний з дією фітази, а опосередковано через її вплив на метаболізм фітатів.

Таблиця 1 – Вплив включення в корми фітази на доступність амінокислот у бройлерів

Амінокислоти	Доступність амінокислот, %		
	в середньому	мінімальна	максимальна
Аргінін	0,55	- 2,87	3,42
Гістидин	0,88	- 4,91	464
Ізолейцин	0,11	- 7,39	7,71
Лейцин	0,08	- 4,31	3,72
Лізин	- 0,91	- 0,59	2,66
Метіонін	- 0,99	- 6,20	1,45
Фенілаланін	-0,59	- 5,06	5,37
Треонін	3,16	- 4,81	10,61
Валін	0,50	- 4,67	5,09

**Молекулярний механізм дії фітази.** Фітази належать до одного з класів фосфатаз – фосфогідролаз міо-інозитол-1, 2, 3, 5-цис-4,6-гексакісдигідрогенфосфату, що піддають гідролізу ефірний зв'язок між міо-інозитолом і ортофосфатом. Фермент, після приєднання до ІФ<sub>6</sub> і відщеплення першої фосфатної групи, залишається зв'язаним з субстратом, потім відщеплює від ІФ<sub>5</sub> наступну фосфатну групу і т. д. [25]. Гідроліз зумовлює утворення нижчих ефірів міо-інозитолфосфату і вільних фосфатних груп у результаті перебігу послідовних реакцій дефосфорилування.

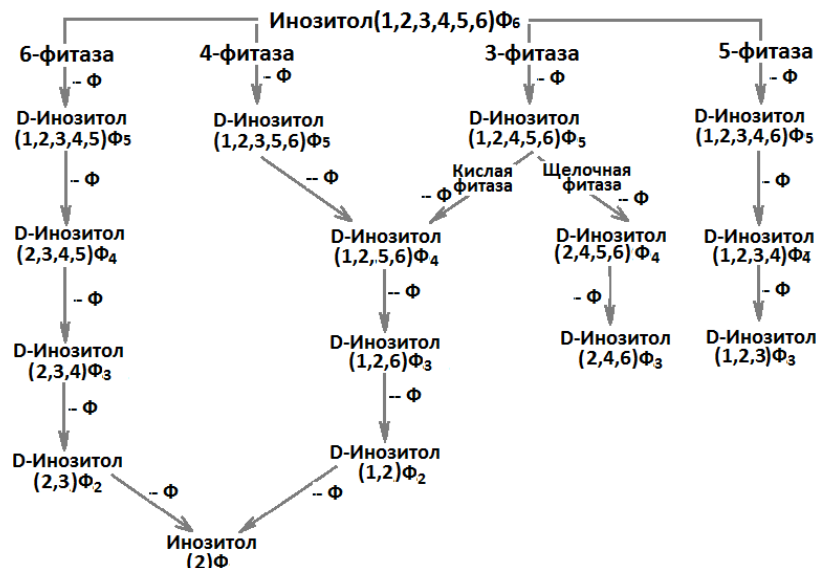


Рис.1. Схема основних шляхів перетворення інозитолгексафосфату.

У ході експерименту встановлено, що фітати корму не впливають на активність фітази [26]. Зокрема, включення в корм, що містить 500 од./кг 6-фітази Phyzyme XR, 8,5; 11,5 або 14,5 г/кг фітату натрію, не змінювало активність ферменту, тобто ІФ<sub>6</sub> не впливає на активність фітази [27]. Відомо декілька десятків ферментів, які відщеплюють фосфатні групи від фітатів, і тому кількість фітаз зростає у зв'язку зі створенням нових форм, що також пов'язано зі зміною їх властивостей. Згідно з рішенням Міжнародного союзу біохіміків, на підставі стереоспецифічності виділено три класи фітаз: 3-фітаза (ЄС 3.1.3.8), 5-фітаза (ЄС 3.1.3.72) і 6-фітаза (ЄС 3.1.3.26), які ініціюють дефосфорилування ІФ<sub>6</sub> у 3-, 5- або 6-го вуглецевих атомів інозитолу і, відповідно, продукують різні ізомери нижчих ІФ. 3-фітазою дефосфорилується ІФ<sub>6</sub> в положенні 3, утворюючи 1, 2, 4, 5, 6-пентакісфосфат і неорганічний фосфат (Ф<sub>н</sub>, (H<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>)), тоді як 6-фітази починають дефосфорилування ІФ<sub>6</sub> в положенні 6, утворюючи 1, 2, 3, 4, 5-пентакісфосфат і Ф<sub>н</sub>. Таким чином, на першій стадії дії фітаз вивільняється йон ортофосфату, і утворюється стереоізомер ІФ (див. схему перетворень ІФ).

Дія кожного типу фітаз і прояв максимальної їх активності залежить від рН. За цією ознакою їх відносять до кислих або лужних. Кислі фосфатази мають широку субстратну специфіч-

ність до фітатів, що не містять металів, тимчасом лужні проявляють специфічність по відношенню до фітатів, зв'язаних з металами. Детально класифікацію фітаз і їх продуцентів описано в оглядах [28–29].

У науковій літературі існує думка, що обмежувальною дією фітаз під час розщеплення фітатів є перша їх реакція, незалежно від типу фітази. Чим зумовлений цей факт – не встановлено: труднощами утворення зв'язку ферменту з субстратом або ж відомими обмеженнями доступності ферменту в кормах до субстрату. В експерименті на бройлерах, які отримували корми, що включають екзогенну 6-фітазу, спостерігали зниження ІФ<sub>6</sub> в зобі і тонкому кишечнику [30]. За результатами досліджень уміст ІФ<sub>6</sub> в зобі знижувався на 30 %. Включення в корм 500 од. фітази підвищувало його перетравність до 47 %, а 1500 од. – до 56 % (табл. 2).

Таблиця 2 – Вплив добавок фітази і міо-інозитулу на концентрацію ізомерів ІФ в хімусі зобу 22-добових бройлерів

Варіанти	ІФ <sub>3х</sub>	ІФ(1,2,3,4)Ф <sub>4</sub>	ІФ(1,2,5,6)Ф <sub>4</sub>	ІФ(1,2,3,4,6)Ф <sub>5</sub>	ІФ(1,2,3,4,5)Ф <sub>5</sub>	ІФ(1,2,4,5,6)Ф <sub>5</sub>	ІФ <sub>6</sub>	Зниження ІФ <sub>6</sub> , %
	мкмоль/г сухої речовини							
Концентрація в кормі	*	*	*	0.3	0.4	0.6	11.6	
Контроль (К)	1.1 <sup>b</sup>	0.6 <sup>a</sup>	0.8 <sup>c</sup>	0.3 <sup>a</sup>	0.7 <sup>a</sup>	0.4 <sup>a</sup>	7.9 <sup>a</sup>	30 <sup>c</sup>
К+міоінозитол	1.4 <sup>a</sup>	0.6 <sup>a</sup>	1.1 <sup>a,b</sup>	0.4 <sup>a</sup>	0.8 <sup>a</sup>	0.4 <sup>a</sup>	7.9 <sup>a</sup>	31 <sup>c</sup>
Phy500**	1.5 <sup>a</sup>	0.3 <sup>b</sup>	1.2 <sup>a</sup>	0.2 <sup>b</sup>	0.4 <sup>b</sup>	0.2 <sup>b</sup>	6.2 <sup>b</sup>	47 <sup>b</sup>
Phy1500	0.8 <sup>c</sup>	н.д. <sup>1</sup>	1.0 <sup>a,b</sup>	0.2 <sup>b</sup>	0.2 <sup>c</sup>	0.2 <sup>b,c</sup>	5.1 <sup>c</sup>	56 <sup>a</sup>
Phy3000	0.7 <sup>c</sup>	н.д. <sup>1</sup>	0.9 <sup>b,c</sup>	н.в.р. <sup>2</sup>	0.2 <sup>c</sup>	0.1 <sup>c</sup>	5.1 <sup>c</sup>	58 <sup>a</sup>

**Примітки:**\*Ізмери ІФ не виявлено.

\*\*В експерименті використовували модифіковану 6-фітазу Quantum Blue.

<sup>a-c</sup> Середні величини з однаковими буквами не відрізняються ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup> н.д., не виявлено в більшості зразків.

<sup>2</sup> < н.в.р. – нижче за рівень, який можна виявити.

Показово, що під впливом ендогенних фітаз у контрольній групі підтримувалася найвища концентрація ІФ(1, 2, 3, 4, 5)Ф<sub>5</sub>, яка порівняно з її концентрацією в кормі зросла на 75 %, що пояснюється дією присутньої в кормі 6-фітази. Водночас концентрація двох інших метаболітів, що містять фосфат в шостому положенні ІФ(1, 2, 3, 4, 6)Ф<sub>5</sub>, не змінилася, або навіть знизилася ІФ(1, 2, 4, 5, 6)Ф<sub>5</sub>, що дає підставу припустити слабке їх утворення з ІФ<sub>6</sub>, або активне перетворення в ІФ(1, 2, 5, 6)Ф<sub>4</sub>, концентрація якого була вища порівняно з ІФ(1, 2, 3, 4)Ф<sub>4</sub>. Міо-інозитол суттєво не вплинув на концентрацію досліджуваних метаболітів.

Додавання до корму 500 од./кг фітази призводило до двократного зниження концентрації ІФ(1, 2, 4, 5, 6)Ф<sub>5</sub>. Цей факт не знаходить пояснення, оскільки до корму включали 6-фітазу, під впливом якої повинна відщеплюватися фосфатна група в 6-му положенні. Подальше збільшення фітази в кормі до 1500 од./кг не вплинуло на її концентрацію. ІФ(1, 2, 4, 5, 6)Ф<sub>5</sub> може перетворюватися тільки в один метаболіт – ІФ(1, 2, 5, 6)Ф<sub>4</sub>, тоді як попередниками ІФ(1, 2, 3, 4)Ф<sub>4</sub> можуть бути два метаболіти: ІФ(1, 2, 3, 4, 5)Ф<sub>5</sub> і ІФ(1, 2, 3, 4, 6)Ф<sub>5</sub>. Незважаючи на це, концентрація ІФ(1, 2, 3, 4)Ф<sub>4</sub> була нижчою, ніж ІФ(1, 2, 5, 6)Ф<sub>4</sub>, яка утворюється з одного попередника. Включення в корм 500 од./кг фітази в 2 рази знижувало концентрацію ІФ(1, 2, 3, 4)Ф<sub>4</sub>, і при 1500 од./кг цей метаболіт у хімусі не виявляли, тобто він повністю перетворювався в ІФ<sub>3</sub>. З викладеного вище слідує, що 6-фітаза по-різному впливала на окремі етапи дефосфорилування ІФ. Можна припустити, що накопичення в середовищі ІФ(1, 2, 5, 6)Ф<sub>4</sub> обумовлено тим, що хімічна реакція цього етапу є «вузким» місцем у ланцюзі гідролізу зв'язку між фосфатом і міо-інозитолом. Це підтверджено результатами інших досліджень [31–32].

У вмісті тонкого кишечника концентрація ІФ<sub>6</sub> була майже втричі вищою, ніж у кормі, і в 3,8 раза вищою, ніж у хімусі зобу, хоча її рівень відносно початкового становив 31 %, тобто його зниження відбувалося так само швидко в кишечнику, як і в зобі. У зв'язку з тим, що вміст вихідного субстрату в хімусі тонкої кишки був у кілька разів вищим, порівняно з його рівнем у зобі, концентрація окремих метаболітів ІФ теж зростала. Можна припустити, що активність ендогенної фітази була недостатньою для гідролізу ІФ<sub>6</sub> і його метаболітів. Це підтверджується зниженням концентрації ІФ з меншим умістом фосфатних груп за згодовування корму, що містить 1500 од./кг фітази (табл. 3).

Таблиця 3 – Вплив фітази і *міо*-інозитулу на концентрацію метаболітів ІФ<sub>6</sub> в хімісі тонкого кишечника бройлерів

Варіанти	ІФ <sub>Р<sub>3х</sub><sup>2</sup></sub>	ІФ(1,5,6)P <sub>3</sub>	ІФ(1,2,3,4)P <sub>4</sub>	ІФ(1,2,5,6)P <sub>4</sub>	ІФ(1,2,3,4,6)P <sub>5</sub>	ІФ(1,2,3,4,5)P <sub>5</sub>	ІФ(1,2,4,5,6)P <sub>5</sub>	ІФP <sub>6</sub>	Зниження ІФP <sub>6</sub> , %
	мкмоль/г сухої речовини								
Контроль (К)	1.1 <sup>b</sup>	н.д. <sup>3</sup>	1.0 <sup>a,b</sup>	2.2 <sup>d</sup>	0.7 <sup>a</sup>	3.3 <sup>b</sup>	1.4 <sup>a</sup>	30.0 <sup>a</sup>	31 <sup>c</sup>
К+ <i>міо</i> -інозитол	1.4 <sup>b</sup>	н.д.	1.2 <sup>a</sup>	2.8 <sup>c,d</sup>	0.7 <sup>a</sup>	3.9 <sup>a</sup>	1.6 <sup>a</sup>	30.1 <sup>a</sup>	28 <sup>c</sup>
Phy500	2.3 <sup>a</sup>	<н.в.р <sup>4</sup>	0.9 <sup>b</sup>	5.2 <sup>a</sup>	0.2 <sup>b</sup>	3.7 <sup>a,b</sup>	1.1 <sup>b</sup>	13.4 <sup>b</sup>	70 <sup>b</sup>
Phy1500	2.7 <sup>a</sup>	н.д.	0.2 <sup>c</sup>	4.2 <sup>a,b</sup>	н.д.	0.8 <sup>c</sup>	0.3 <sup>c</sup>	3.3 <sup>c</sup>	93 <sup>a</sup>
Phy3000	2.5 <sup>a</sup>	н.д.	н.д.	3.8 <sup>b,c</sup>	н.д.	0.6 <sup>c</sup>	0.2 <sup>c</sup>	2.8 <sup>c</sup>	94 <sup>a</sup>

У кишечнику під впливом 500 од./кг фітази, концентрація ІФ (1, 2, 3, 4, 6) P<sub>5</sub> знижувалася незначно, тимчасом рівень утвореного з нього метаболіту ІФ (1, 2, 5, 6) P<sub>4</sub> зріс у 2,4 раза. Збільшення дози фітази в споживаному кормі до 1500 од./кг призвело до зниження концентрації всіх метаболітів за винятком зростаючого ІФ (1, 2, 5, 6) P<sub>4</sub>. Цей факт підтверджує припущення про те, що активність фітази, що діє на ІФ (1, 2, 5, 6) P<sub>4</sub>, обмежує дефосфорилювання фітатів, на відміну від фітази, яка метаболізує ІФ (1, 2, 3, 4) P<sub>4</sub>. На підставі викладених вище результатів можна зробити висновок, що перший етап перетворення ІФ<sub>6</sub> в ІФ<sub>5</sub> є обмежувальним чинником у дефосфорилюванні фітатів. Однак у ланцюзі послідовних перетворень ІФ іншим обмежувальним чинником метаболізму фітатів є недостатня активність фітази, яка гідролізує ІФ (1, 2, 5, 6) P<sub>4</sub>.

Ми звернули увагу на результати, отримані на підставі іншого методологічного підходу. В експерименті описано зміну вмісту окремих метаболітів у посліді курчат одного віку за впливу однакових доз кормових фітаз [32]. Концентрацію метаболітів у посліді птиці можна розглядати як сумарну, отриману в результаті їх утворення і втрат (табл. 4).

Таблиця 4 – Концентрація інозитолфосфатів у кормі і посліді 3-тижневих бройлерів

Додано фітази*, од./кг	Жива маса в 3 тижні, г/гол	Концентрація метаболітів ІФ**, г/кг				
		Корм				
		ІФ <sub>6</sub>	ІФ <sub>5</sub>	ІФ <sub>4</sub>	ІФ <sub>3</sub>	Інозитол
		11,56	0,558	Не виявлено		
Послід						
Контроль (К)	840	39,5	4,70	3,04	0,24	0,37
К+ 500	874	20,7	4,76	4,93	0,18	0,80
К+ 1500	882	8,8	2,73	7,30	0,26	1,23

**Примітка:**\* Модифікована 6-фітаза QuantumBlue.

\*\* Сума стереоізомерів.

Концентрація інозитолгексафосфату під дією рекомендованої дози фітази знизилася на 48 %, і під впливом «супер дози» – на 78 %. У посліді контрольної групи вміст ІФ<sub>4</sub> був нижчим, ніж ІФ<sub>5</sub>, що могло бути пов'язано з недостатнім утворенням ІФ<sub>5</sub> за низької активності ендогенних фітаз. Споживання корму з 500 од./кг фітази майже не вплинуло на концентрацію ІФ<sub>5</sub>, однак рівень ІФ<sub>4</sub> зріс в 1,6 раза. У групі, яка одержувала корм, що включав 1500 од./кг екзогенної фітази, знижувалася концентрація ІФ<sub>6</sub>. Це обумовлено її активним перетворенням в ІФ<sub>5</sub>. Проте її концентрація теж знижувалася, що свідчить про активацію процесу перетворення ІФ<sub>5</sub> в ІФ<sub>4</sub>. Метаболізм ІФ<sub>4</sub>, будучи «вузьким» у ланцюзі його перетворення в ІФ<sub>3</sub>, зумовив збільшення концентрації ІФ<sub>4</sub> в 2,4 раза порівняно з контрольною групою.

Під час дослідження *in vitro* з використанням чистого субстрату – фітату натрію, коли доступність фітази до субстрату структурно не була обмежена, дійшли висновку, що дефосфорилювання ІФ<sub>4</sub> є лімітуючим у всьому ланцюзі послідовних реакцій відщеплення фосфату від вихідних фітатів [31]. Таким чином, повільне травлення ІФ<sub>6</sub> у дослідженнях на тваринах може мати дві причини: 1) брак ферменту стосовно субстрату, що супроводжується гальмуванням ініціації дефосфорилювання фітатів; 2) обмеження доступності ферменту до фітатів, які містяться в кормах. Ці причини усувають відомими способами. З точки зору регуляції молекулярного механізму ланцюга послідовних етапів дефосфорилювання ІФ<sub>6</sub>, явищем, що гальмує процес, є низька швидкість дефосфорилювання ІФ<sub>4</sub>, яка спостерігається навіть за високих доз екзогенної

фітази. З огляду на те, що ІФ<sub>4</sub> може перебувати в зв'язку з фітазою більш тривалий час, він буде «відволікати» фермент від каталізу дефосфорилювання інших молекул фітатів і побічно гальмуватиме перетравлення фітатів у цілому. Цю проблему можна вирішити шляхом створення фітази з високою швидкістю розщеплення ІФ(1, 2, 5, 6)Ф<sub>4</sub>. Сьогодні про проведення цілеспрямованих робіт у цьому напрямі не відомо.

**Механізм дії фітази в організмі.** Максимальний прояв активності фітази залежить від рН середовища, в якій знаходиться фермент. У таблиці 5 наведено основні властивості комерційних препаратів, найбільш поширених в ЄС [25].

Таблиця 5 – Властивості основних фітаз, доступних на ринку ЄС

Параметри	Фітази, тип						
	Quantum	Quantum Blue	Phyzyme XP	Axtra PHY	Ronozyme Hiphos	Ronozyme NP	Natuphos
	6-фітаза	6-фітаза	6-фітаза	6-фітаза	6-фітаза	6-фітаза	3-фітаза
Діапазон рН, охоплюючий 80% активності	4,0–5,0	3,5–5,0	3,0–5,0	3,0	3,0–4,5	4,5–5,5	4,5–5,5
Активність, за рН 3,0 <sup>a</sup> , %	92,5	101,3	82,8	235,1	145,7	12,5	64,2
Активність, за рН 7,0 <sup>a</sup> , %	0,8	2,2	1,7	0,5	0,6	7,8	7,0
Од. активності для гідролізу 50 % ІФ <sub>6</sub>	148	211	140	129	269	480	503
Од. активн. для вивільнення 50 % Р <sub>н</sub>	1459	789	636	654	841	1719	1773
КМ(μM), рН 5, 37°C	228	142	285	272	364	75	35
Kcat/c, рН 5, 37°C	1545	1821	1327	1054	1478	1532	318
КМ(μM), рН 3, 37°C	257	179	302	311	427	98	142
Kcat/c, рН 3, 37°C	1012	1274	984	768	1061	824	170
Залишкова активність при рН 3; 37°C, 45 хв							
Без пепсину	98	98	92	87	93	58	81
З пепсином, 3000 од.	93	98	92	85	92	54	47
Оптимум іонної сили, mM NaCl	50–100	50–200	100–200	50–200	50–200	50–200	50–600

**Примітка:**<sup>a</sup>активність фітази при рН 5 прийнята за 100%.

З даних таблиці 5 можна зробити висновок, що переважна кількість фітаз мікробіального походження належить до типу 6-фітаз. Наведені ферменти в кілька разів активніші в середовищі за рН 3, ніж за рН 7. Активність, необхідна для гідролізу 50 % інозитолфосфату, різнилася для окремих фітаз у 3,9 раза, тимчасом активність, необхідна для вивільнення 50 % неорганічного фосфату, відрізнялася у 2,8 раза. Порівняння двох різних фітаз – Quantum і Phyzyme XP, що вимагають однакової активності для гідролізу ІФ, показало, що вони різнилися в 2,3 раза за активністю, необхідною для відщеплення неорганічного фосфату. На підставі цього можна зробити висновок, що незважаючи на те, що фітази належать до одного типу, механізми їх дії різняться, однак деталі цих відмінностей не встановлено.

З огляду на чутливість ферментів до кислотності середовища і його зміни в ШКТ, слід очікувати, що активність фітаз буде проявлятися неоднаково в його різних відділах, що підтверджується в експерименті щодо вивчення активності фітаз, продукованих *E. coli* і *P. luscii* [33]. Оптимум активності обох фітаз, визначений *in vitro*, знаходився в діапазоні рН 4–4,5. До корму дослідних груп бройлерів включали однаково за активністю кількість фітаз, проте фітаза *E. coli*, визначена стандартним методом, на тлі комбікорму виявилася менш активною, ніж фітаза *P. Luscii*, активність якої була дещо вищою, ніж заявлена (табл. 6). У разі потрапляння корму в зоб, де процеси травлення виражені слабо, активність ендогенних фітаз, порівняно з вихідною в кормі, зростала в 2,9 раза. Водночас середовище зобу виявилось несприятливим для введених фітаз, і їх активність знижувалася порівняно з вихідною в кормі у 2,5–5,2 раза. У сумарному вмісті залозистого і м'язового шлунків активність ендогенних і доданих фітаз була різко пригнічена. Активність фітази *E. coli* не знижувалася, і в порожній кишці різко зростала, тимчасом активність *P. luscii* продовжувала залишатися на мінімальному рівні. Загалом фітаза *E. coli* була більш стійкою до дії ферментів і умов середовища ШКТ.

Таблиця 6 – Активність фітаз у хімісі в розрахунку на 1 кг спожитого корму

Місце відбору зразка	ОР (1,0% Са; 0,39;% загального Р)	ОР + 1000 од./кг фітази <i>E. coli</i>	ОР + 1000 од./кг фітази <i>P. lycii</i>
Корм	14	825	1152
Зоб	41	328	218
Шлунок	10	119	25
Порожня кишка	24	707	36
Клубова кишка	49	328	22

Прояв різної активності фітаз у вивчених відділах кишечника не підтверджується кількістю перетравлених фітатів. В експерименті на бройлерах, які отримували комбікорм, виготовлений на основі кукурудзи і соєвого шроту, вивчали дію трьох різних фітаз щодо розщеплення природних фітатів під час просування хімісу по ШКТ. Птиці дослідних груп кожен фітазу включали в корм з розрахунку 500 од./кг (табл. 7).

У курчат контрольної групи (ЗР), за рахунок ендогенних фітаз, в зобі перетравлювалася мінімальна кількість ІФ<sub>6</sub>, тимчасом під впливом доданих у корм фітаз гідроліз фітатів зростав у кілька разів [34]. У зобі більш активною була грибна фітаза (Phy A) порівняно з бактеріальними (Phy E1 і Phy E2). Однак, якщо звернути увагу на рівень гідролізованих фітатів у хімісі з дванадцятипалої і тонкої кишки, можна помітити, що кількість фітатів, які перетравлені ендогенними фітазами, підвищилася до 59 %, і приблизно на тому самому рівні перетравлення було за впливу Phy A і Phy E1. Велику перетравність ІФ<sub>6</sub> відмічено за впливу Phy E2. Зменшення частки фітатів у хімісі дванадцятипалої і порожньої кишок контрольної групи за впливу ендогенних фітаз порівняно з хімісом зобу становило 50 %. Екзогенна фітаза Phy A не підвищувала частку перетравлених фітатів у хімісі дванадцятипалої і порожньої кишок, як це відбувалося за дії бактеріальних фітаз (на 34–44 %). У клубовій кишці збільшення гідролізованих ІФ<sub>6</sub> за впливу ендогенної фітази, так само як і Phy A і Phy E1, було близьким, хоча дещо вищим за дії бактеріальних фітаз. У хімісі сліпих кишок кількість перетравлених фітатів зростала на 14–19 %, сягаючи максимуму – 91–98 %. При цьому існуючі, хоча й несуттєві відмінності між активністю ферментів, були недостатніми для твердження про рівноцінність їх дії. Якщо врахувати, що в контрольній групі перетравлювався 91 % фітатів, можна ставити під сумнів доцільність застосування екзогенних фітаз. Дещо суперечливі дані, представлені у таблицях 6 і 7, зумовлені різними умовами їх отримання, і потребують подальшого уточнення.

Таблиця 7 – Розщеплення ІФ<sub>6</sub> у відділах ШКТ бройлерів, %

№ з/п	Відділи шлунково-кишкового тракту	Підслідні групи*			
		ОР	Phy A	Phy E1	Phy E2
1	Зоб	9	64	31	44
2	12-типала + порожня кишки	59	63	65	88
3	Клубова кишка	74	74	79	82
4	Сліпі кишки	91	93	98	96

**Примітка:**\*Групи: ОР основний раціон; PhyA: ОР + 3-фітаза, *Aspergillusniger*, *Finase P*; PhyE1: ОР + 6-фітаза, *Quantum*, *E. coli*; PhyE2: ОР + 6-фітаза, *QuantumBlueE. coli*.

Розщеплення фітатів у кишечнику зумовлює вивільнення фосфатів, однак їх всмоктування може обмежувати присутність кальцію й інших позитивно заряджених йонів металів унаслідок утворення сполук з низькою розчинністю. У бройлерів, які отримували фітази (ОР), концентрація вихідного ІР<sub>6</sub> у вмісті зобу становила 14,49 мкмоль/г сухої речовини, за впливу фітаз Phy A, Phy E1, Phy E2 вона знижувалася на 60, 25 і 40 % відповідно. Аналіз вмісту залозистого і м'язового шлунків показав, що рівень вихідного ІФ<sub>6</sub> у результаті дії Phy A, Phy E1 і Phy E2 знижувався до 34,2; 15,3 і 5,1 %, тобто під впливом Phy E2 фітати практично повністю піддалися першій стадії дефосфорилування в шлунку. Концентрація ІФ<sub>5</sub>, що утворилися в шлунку в результаті дії фітаз, знижувалася в 19–38 разів у порівнянні з ІФ<sub>6</sub> [34].

Збільшення частки фітатів, які розщеплюються в зобі, має принципове значення, оскільки протеїн і крохмаль у ньому практично не перетравлюються, тимчасом фітати мірою поглиблення перетравлення втрачають здатність проявляти антипоживні властивості. Фітати корму за рН зобу слабозрозчинні, тому вони не можуть вступати у взаємодію і зв'язуватися з іншими ре-



човинами, з цієї ж причини їх розщеплюють не всі фітази. Відтак, у зв'язку зі зменшенням концентрації фітатів знижується можливість блокування ними білків, амінокислот, кальцію або інших мінералів. Незважаючи на досягнення у вивченні механізму перетравності фітатів, основаному на експериментах *in vitro*, перенести ці результати в умови *in vivo* не вдається, так само як і застосувати механізм дії ендогенних та екзогенних фітаз стосовно тварин.

У 70-х роках минулого століття виявили зниження використання протеїну під впливом фітатів. Припускають, що потрапляючи в кисле середовище шлунка, йони металів, зв'язані з ФК, замінюються йонами  $H^+$ , фітати розчиняються, перетворюючись у протоновані фітат-йони, частина фосфатних груп яких зберігає негативний заряд у шлунку за рН від 2 до 3 [12]. Проте інша частина груп має негативний заряд і у верхніх відділах кишечника. Взаємодія між аніонами фітатів і амінокислотами білка в хімосі зумовлює утворення важкорозчинних сполук, які будуть недоступні для всмоктування. Інтенсивність процесу залежить від природи білка, концентрації фітату в кормі і рН. Для пригнічення розчинності білка критичне співвідношення фітат : білок становить приблизно 0,05 : 1, тобто 10 г фітинової кислоти на 200 г протеїну [35]. Воно збігається з таким самим співвідношенням у комбікормах, виготовлених на основі кукурудзи і соєвого шроту. Споживання корму, що містить 0,25–0,35 % фітатів, зумовлює зниження розчинності протеїну і всмоктування перетравних амінокислот. Припускають, що фітати зв'язують гліцин, серин, треонін, пролін і в ряді випадків гістидин [27, 36].

Узагальнення результатів, опублікованих у статтях, показало, що збагачення фітазою раціонів зумовлювало підвищення засвоєння амінокислот. Зазвичай відзначали збільшення доступності цистеїну, треоніну, серину, проліну і гліцину, тимчасом на метіонін, аргінін і глутамінову кислоту вплив був слабким [37].

Порівняння перетравності бройлерами протеїну з пшениці та кукурудзи показало, що за 9 амінокислотами пшениці вона становила 80 %, а за додавання в корм фітази зросла на 13,4 %. Найбільший приріст відзначено за лізином – 17,6 %, треоніном – 16,9, ізолейцином – 15,2 % і гістидином – 15 %. Нижче за середні величини збільшувався фенілаланін і лейцин. Перетравність протеїну кукурудзи становила 87 %, однак середній приріст за зазначеними амінокислотами становив всього 3,9 %. У цьому випадку найбільше збільшення встановили за треоніном – 7,3 % і гістидином – 6,0 %; за лізином динаміка не збіглася, і його приріст був нижче середнього [38]. Збільшення частки доступних амінокислот у двох останніх дослідженнях різнилося за напрямом змін. Автори не пояснили причин виявлених відмінностей, оскільки зміна концентрації доступних амінокислот не відображала складу протеїну корму.

В іншому дослідженні на тлі раціону зі зниженим рівнем фосфору ті самі автори встановили, що загальна перетравність протеїну бройлерами становила 85,6 % і не змінювалася в присутності фітази. Водночас доступність треоніну зросла на 12,4 %, тирозину – на 6,7, ізолейцину – на 6,5, гістидину – на 3,1 %, при цьому знижувалася доступність цистеїну на 2,8 % [38]. Якби перетравність знижувалась або зростала в результаті пригнічення протеаз у ШКТ, зміна концентрації амінокислот відбувалася б пропорційно їх умісту в протеїні. Відзначено, що підвищення доступності амінокислот у присутності фітаз проявляється у разі розщеплення не менш як 30–40 % фітатів [24], тобто звернули увагу на кількість розщеплених фітатів, а не на активність фітази.

Аналогічного висновку можна дійти, аналізуючи результати спостережень на курчатах-бройлерах, яким згодовували корм, що не містить фітатів: у ньому єдиним джерелом білка був казеїн. Включення в корм фітату натрію знижувало перетравність казеїну з 85 до 2 % і сухих речовин – до 37 %. Зменшення кількості введеного фітату вдвічі зумовлювало зниження пригнічення перетравності казеїну. Дослідники вважають, що подібним чином фітати поведуть себе у птиці, яку годують звичайними раціонами [22]. Із результатів цього дослідження доцільно зробити висновки: 1) фітати пригнічують перетравність протеїну; 2) фітаза за відсутності фітатів не підвищує перетравність протеїну; 3) фітаза значною мірою долає гальмівну дію фітатів.

На нашу думку, механізм дії фітатів, який виявляється у вибіркового пригніченні доступності окремих амінокислот, не пов'язаний з травленням протеїну. Фітази, згідно з їх біологічними властивостями, не можуть брати участь у перетравленні білка: спостерігаються зміни, обумовлені зниженням доступності вже перетравлених амінокислот, причому відбувається це відповідно до хімічних особливостей амінокислот, що вступають у реакції з фітат-йонами і рН

ШКТ. Зв'язування амінокислот і, можливо, поліпептидів аніоном ФК залежить від їх заряду, який може змінюватися залежно від рН, тобто відділу ШКТ.

Зниження доступності поживних речовин у ШКТ обумовлює антипоживну дію фітазів. Антагоністичним щодо цього процесу є підвищення доступності протеїну і крохмалю в присутності фітази, що відносять до її екстрафосфорної дії. Під час розщеплення фітазів утворюються вільні ефіри інозитолфосфату з меншим умістом фосфатних груп, що зумовлює зниження їх негативного заряду, і в результаті – до втрати здатності блокувати перетравлення білків і всмоктування амінокислот і мінералів. Цей феномен назвали «екстрафосфорною дією фітази» [21], який не пов'язаний з її прямою дією, а обумовлений зниженням умісту реакційно-активних аніонів ФК у хімосі. Поняття «екстрафосфорна дія», введено в практику комерсантами для обґрунтування включення в корми більшої кількості фітази. Підвищення дози збільшує використання протеїну і енергії корму. При цьому підвищується перетравність фітазів, які в результаті зникають і не можуть проявляти антипоживну дію. Таким чином, відбувається не екстрафосфорне, а одночасне підвищення доступності фосфору та інших поживних речовин.

Доцільність збільшення доз фітаз, включених у корм, зазвичай пов'язують зі встановленою раніше оптимальною дозою. Вперше її визначили для фітази Натуфос, мета застосування якої полягала в підвищенні доступності фосфору з фітазів. Підвищенню доступності інших поживних речовин приділяти увагу почали пізніше. З появою нових фітаз поняття «оптимальної» дози в науці стало нечітким, однак практики продовжують порівнювати рекомендовані дози нових фітаз з раніше встановленою «оптимальною» дозою Натуфосу. Подібне порівняння науково не обґрунтоване, оскільки створені згодом фітази відрізняються від першої як за механізмом дії, так і за своїми властивостями (утвореними стереоізомерами, величиною рН, необхідної для прояву максимальної активності, стійкістю до протеаз тварин та ін.).

Узагальнення результатів понад 700 спостережень, опублікованих за період з 1996 по 2015 роки, з вивчення впливу фітази на доступність амінокислот у поросят і бройлерів показало [24], що у поросят середня доступність 12 вивчених амінокислот становила 77 %, і зросла за включення до раціону фітази в середньому на 2,6 %. Найбільший приріст встановлено за треоніном – 3,8 %, триптофаном – 3,4, фенілаланіном – 3,0 % і мінімальний за метіоніном – 2,0 %. У бройлерів доступність досліджуваних амінокислот сягала 81 % і під впливом фітаз зросла на 4,1 %, тобто більше, ніж у свиней. Показово збільшувалася доступність цистеїну – на 7,2 %, проти +2 % у свиней, треоніну – на 6 %, ізолейцину – на 4,6 і фенілаланіну – на 4,6 %. У свиней з перерахованих амінокислот тільки доступність треоніну під дією фітаз зростала вище середньої величини. В обох видів тварин відбувалося мінімальне збільшення приросту перетравного метіоніну. З огляду на це, в більшості випадків включення в корми фітази підвищує доступність амінокислот у свиней і птиці, хоча окремі дослідники отримали значення, що перевершують наведені в таблиці 8 у 2–4 рази.

Таблиця 8 – Вплив фітази і різних концентрацій кальцію і фосфору в кормі на перетравність протеїну бройлерами

№ групи	фосфор / кальцій, в кормі, %	Фітаза, одиниць	Перетравні, %			Жива маса в 19 діб, г	Спожито корму, г/гол	Витрати кормів на приріст
			Протеїн	Фенілаланін	Триптофан*			
1	0,63 / 0,95	0	81,1	89,0	79,0	495	675	1,37
2	0,48 / 1,05	0	74,3	81,7	66,5	438	589	1,34
3	0,44 / 0,58	0	79,1	86,0	76,1	487	620	1,27
4	0,63 / 0,95	600	80,4	89,0	81,1	527	670	1,29
5	0,48 / 1,05	600	80,2	86,0	76,8	461	590	1,28
6	0,44 / 0,58	600	81,0	84,9	79,1	561	699	1,25

Примітка: \*В оригінальній публікації наведено результати по 15 амінокислотам.

На доступність амінокислот впливає не тільки наявність фітази в кормі, а й концентрація фосфору в раціоні і співвідношення фосфору і кальцію. На курчатах 18-добового віку встановлено, що згодовування корму, що містить рекомендовану нормативами кількість загального фосфору і кальцію (кальцій : фосфор = 1,5), перетравлювалася максимальна кількість протеїну (1-ша група). На цьому тлі додавання фітази (4-та група) достовірно не впливало на апетит, доступність фенілаланіну, триптофану, хоча жива маса підвищилася на 6,5 %, а ефективність

використання корму – на 5,8 % (табл. 8). Зниження в раціоні концентрації загального фосфору і збільшення співвідношення Ca : P до 2,2 (2-га група) призвело до значного гальмування перетравності протеїну, доступності амінокислот, споживання корму за період спостереження та приросту живої маси. Включення до цього раціону фітази (5-та група) значно підвищувало перетравність протеїну, хоча вона залишалася нижчою, ніж у 1-й групі. Крім того, зросла ефективність використання корму. Інтерес становлять результати 3-ї групи курчат, що споживали корм зі зниженим рівнем кальцію і фосфору. Перетравність протеїну і доступність амінокислот була нижчою, ніж у першій групі, де співвідношення Ca : P було 1,5, тобто близькою до 3-ї групи, але істотно вищою порівняно з 2-ю групою. На цьому тлі введення в корм фітази (6-та група) зумовлювало подальше зростання апетиту і приросту живої маси, які виявилися вищими, ніж в 1-й групі. Перетравність протеїну була подібною до 1-ї групи, корм якої містив офіційно рекомендовану кількість кальцію і фосфору [40].

Отже, можна зробити висновок, що за високого співвідношення кальцію до фосфору у разі відсутності фітази знижується апетит і перетравність протеїну, що супроводжується зменшенням продуктивності. Застосування фітази дещо послаблює ці наслідки, однак найбільш ефективною її дія спостерігається за зниженого вмісту в кормі кальцію і фосфору. З практичної точки зору, застосування фітази дає змогу економити джерела кальцію і фосфору, звільняючи в раціоні місце для інших компонентів, і отримувати найвищу продуктивність.

У більшості випадків використання фітаз зумовлює підвищення ефективності використання не тільки протеїну, а й енергії корму. Це показано в досліді на курчатах кросу Росс 308, яким у корми включали три різних фітази в дозі 1000 од./кг [41]. Застосування фітаз сприяло збільшенню приросту живої маси до 21-ї доби на 12–14 % (табл. 9).

Таблиця 9 – Вплив фітаз на використання енергії з кукурудзяно-соевих раціонів

Група	Жива маса в 21 добу, г	Використання корму на приріст	Енергії в 1 кг корму, МДж	
			обмінної	продуктивної
I. Контрольна (OP)	761	1,512	13,87	9,80
II. OP + фітаза А	853	1,518	14,26	10,35
III. OP + фітаза В	868	1,447	14,23	10,30
IV. OP + фітаза С	859	1,433	13,65	9,86

Визначення теплотворної здатності корму і посліду в калориметричній бомбі дало змогу встановити, що додавання фітаз у корми підвищувало обмінну енергію корму (ОЕ) корму в 2-й групі на 2,8 %, у 3-й – на 2,6 %, і знижувало в 4-й групі. При цьому спостерігали значний відносний приріст продуктивної енергії в порівнянні з ОЕ, який становив у 2-й групі бройлерів 5,6, а в 3-й – 5,1 %. У всіх курчат під впливом фітаз не змінювалися теплопродукція і тепловиділення.

На прикладі курчат 4-ї групи видно, що жива маса може підвищуватися за впливу фітази (4-та група) навіть без підвищення використання ОЕ корму. У всіх групах фітази підвищували доступність фосфору, що підтверджено підвищеною мінералізацією кісток. Результати описаного і численних інших досліджень сприяли загальному визнанню екстрафосфорної дії фітази, хоча механізм її прояву залишається нез'ясованим.

За оцінювання ефективності ферментів, у тому числі фітази, існує дві можливості збільшення використання поживних речовин корму: 1) підвищення перетравності цільових субстратів і їх доступності для всмоктування; 2) вплив на фізіологію травлення, включаючи зміни маси шлунка, кишечника, секреції травних соків і всмоктування перетравних речовин, і так само мікрофлори кишечника. Чинники другого пункту менш очевидні, тому на них звертають мало уваги і не враховують. Друга можливість не пов'язана з прямою функцією ферментів, і в разі сприятливих наслідків її відносять до екстра ефекту, тобто додаткової дії, а точніше впливу. Підвищення доступності амінокислот протеїну у разі включення в раціон фітази не є її унікальною додатковою дією, оскільки включення в раціон ксиланази теж підвищувало доступність амінокислот, навіть дещо вище, ніж за впливу фітази [42]. Наведені дослідником дані вказують, що кількісні зміни за 17 вивченими амінокислотами за впливу обох ферментів відбувалися симбатно. Спостерігаючи принципово однакові за спрямованістю для кожної амінокислоти зміни під впливом ферментів, що мають різні функції, можна припустити, що вони відбуваються за участю ще не вивченого, можливо, схожого механізму.

**Оцінювання активності фітаз.** Оцінювання активності фітаз є проблемою для практиків під час вибору відповідного ферментного препарату. Як зазначено в таблиці 5, фітази різняться за властивостями, прояв їх максимальної активності залежить від рН, що змінюється по ходу ШКТ і не у всіх його ділянках буде оптимальною для обраного ферменту. Фітаза – єдиний фермент, який створювали для годівлі тварин, і для визначення її активності розроблено міжнародний стандарт ISO 30024:2009 (EN). Як субстрат використовують фітат натрію, частка якого в кормах мінімальна. В описі стандарту зазначено, що метод не застосовується для оцінювання або порівняння ефективності різних фітаз, визначення їх активності в кормах і не дає змоги ідентифікувати фітази, які використовують як кормову добавку. Опосередкованість методу підтверджується вивченням фітаз різного походження шляхом гідролізу різних субстратів *in vitro* (табл. 10).

Таблиця 10 – Відносна активність фітаз різних продуцентів, %\*

Джерело фітаз	Фітат натрію	Фітат соєвого протеїну	Фітат лізоциму
<i>E. coli 1 (S. pombe)</i>	100	164	229
<i>E. coli 2 (P. pastoris)</i>	103	138	152
<i>A. niger</i>	37	32	23
<i>P. luscii</i>	10	25	13

**Примітка:**\*Фітази було взято в дозі 0,1 од./мл. Активність *E. coli 1* становила 0,096 мкмоль P/мл/хв.

Активність фітази, отриманої в результаті культивування *E. coli 1 (S. pombe)* за використання як субстрату фітату натрію, брали за 100 % по відношенню до інших досліджуваних фітаз. Розрахунковий аналіз показав, що вона була в 1,6 раза активнішою за відщеплення фосфату від фітатів соєвого протеїну, і в 2,3 раза – за гідролізу фітату лізоциму [43]. Фітази, які продукують *E. coli*, приблизно з однаковою інтенсивністю дефосфорилували фітат натрію, але різнилися за активністю розщеплення протеїнів фітинової кислоти. Активність фітази, продукованої *A. niger*, виявилася в декілька разів нижчою і слабшою за фітазу, утворену *P. luscii*. Значну варіабельність активності кислих і лужних фітаз залежно від використовуваних субстратів спостерігали інші дослідники [44]. Фахівці відзначають, що одиниці активності, які характеризують ферментні препарати, малоінформативні у разі порівняння різних продуктів і передбачені тільки для їх маркування [45]. Активність відображає здатність ензиму проявляти певну дію в конкретних стандартних умовах методу аналізу. Вони завжди відрізняються від умов в організмі, тому активність, визначена за аналізу стандартним методом, не збігається з проявом дії ензиму в ШКТ, і не є надійним способом для визначення порівняльної ефективності кормових фітаз [45]. Ефективність фітаз може бути визначена тільки в результаті виробничих випробувань.

Травлення поживних речовин є багатостадійним процесом, який починається в шлунку (зобі у птиці) і триває впродовж усього ШКТ. Умови дії ензимів у зобі, шлунку і навіть різних відділах кишечника характерні для конкретного місця і субстрату, потрапляють у кожний наступний відділ після впливу на них у попередніх. У кожному відділі ШКТ виділяються специфічні ензими, адаптовані для дії в конкретному відділі, секреція яких кількісно змінюється у відповідь на властивості присутніх у певному місці субстратів. Будь-які ферменти, створені промисловим способом, мають постійні задані властивості, їх кількість в ШКТ не регулюється біологічними механізмами. У зв'язку з цим кожна включена в корм фітаза буде діяти локально, хоча фітати присутні впродовж усього ШКТ. Склад фітатів змінюється: на початку присутні фітати кормів, а починаючи зі шлунка й далі, до них додаються нові фітати, утворені в результаті взаємодії аніонів ФК з позитивно зарядженими йонами металів, білками і крохмалем. Зміна субстратного складу вимагає адаптації властивостей ферментів. Відтак, неможливо створити фітазу як екзогенний фермент, який буде протягом усього ШКТ перетворювати субстрати в доступну для всмоктування форму. В таблиці 7 наведено дані, які вказують, що потенційно фітати можуть перетравлюватися до 91–98 %. Тим часом у дослідженнях на тваринах доведено, що під впливом фітаз доступність фосфору підвищується лише на 16–25 [46] чи 20–50 % [47], при цьому велика частина фосфору залишається в складі фітатів і недоступна для організму. Численні публікації зазначають про позитивну дію фітази на доступність фосфору і амінокислот, однак результати досить нестійкі [24].

Дослідники дійшли висновку, що багато аспектів фундаментальних знань про перетворення фітатів у ШКТ і механізм дії фітази недостатньо вивчено, щоб їх інтегрувати для більш повного розуміння цього процесу [48]. У практичному сенсі створення фітаз з поліпшеними характерис-

тиками є важливим напрямом, який розробляють, застосовуючи методи генної і білкової інженерії, однак жодна з відомих фітаз не може задовольнити вимоги щодо ідеальної кормової добавки [49]. Про неможливість об'єднати бажані властивості в одній із фітаз зазначають й інші дослідники [50]. Хоча розуміння цієї проблеми було окреслено 10 років тому, значного прогресу в цьому напрямі не досягнуто. Можна вважати цілком раціональною пропозицію щодо створення комплексних кормових препаратів фітаз, що включають індивідуальні фітази, які проявляють взаємодоповнювальну дію [49, 51]. Вважають, що найбільшу увагу слід приділяти ранньому гідролізу фітатів у верхніх відділах ШКТ [26].

Активність фітаз прийнято оцінювати за кількістю неорганічного фосфору, вивільненого з фітатів. На цьому принципі базується міжнародний стандарт визначення активності фітаз ISO 30024:2009 (EN). Як субстрат рекомендовано використовувати фітат натрію. Однак прогрес у вивченні механізму дії фітаз і оцінюванні відомих методів аналізу дав змогу встановити, що визначення їх активності за кількістю вивільненого фосфору пов'язано з похибками, властивими методу, і не відображає механізм дії фітаз [31, 52]. Вивчення субстратної специфічності показало, що одні фітази проявляли виражену специфічність до фітинової кислоти, тимчасом інші активно відщеплювали фосфатні групи від фосфоровмісних сполук, включаючи фенілфосфат, *p*-нітрофенілфосфат, фосфорильовані цукри,  $\alpha$ - і  $\beta$ -гліцерофосфат, АДФ, АТФ, фосфоенолпіруват, 3-фосфогліцерат. З огляду на те, що в кормах, крім фітатів, присутні інші органічні фосфоровмісні сполуки, які є субстратами фітаз, вони будуть завищувати кількість вивільненого фосфору, даючи хибнопозитивні результати, що унеможливило адекватне оцінювання активності фітаз [31]. Згідно з ISO 30024:2009, активність фітаз визначають у середовищі за рН 5,5, тимчасом оптимум активності комерційних препаратів фітаз варіює в діапазоні рН від 2,5 до 7,0. У різних відділах ШКТ рН не збігається з умовами, що регламентуються стандартним методом. Зокрема, фітаза, яку продукує *Aspergillus niger*, має два оптимуми прояву активності – за рН 2,5 і 5,5, а тому вона буде більш ефективною порівняно з фітазою з такою самою активністю, встановленою стандартним методом, яка має один оптимум. Зарубіжні автори зазначають, що активність ферментів і їх дія відображають різні властивості. Одиниці, що характеризують активність, передбачено для цілей маркування, і вони неінформативні для порівняння різних продуктів [53]. Це відображено і в ISO 30024:2009, що створює труднощі в розрахунку матричних значень фітаз та інших ензимів.

Вибираючи кормові препарати фітаз, необхідно звертати увагу на однорідність їх частин і віддавати перевагу мікрогранульованим формам, які краще розподіляються у кормі під час змішування та є більш стабільними. Така рекомендація підходить для будь-яких ферментних препаратів. Фітази в складі препаратів повинні бути термостабільними і витримувати підвищення температури в кормів процесі гранулювання. Найбільш ефективними будуть препарати з проявом активності в кислому і нейтральному середовищі. У зв'язку з відсутністю надійного лабораторного методу для прогнозування ефективності дії фітаз на тварин, рішення про застосування будь-якого препарату слід приймати на підставі його випробування в конкретних умовах на тлі найчастіше використовуваних кормів.

**Висновки.** Основна частина фосфору в кормах представлена фітатами, які слабо перетравлюються в ШКТ тварин. Для покриття дефіциту фосфору у корми додають його мінеральні джерела, що сприяє здорожчання кормів. Неперетравлені фітати виділяються з калом і забруднюють навколишнє середовище фосфором. Для підвищення доступності фосфору фітатів у корми включають кормові препарати фітази. Вона, розщеплюючи фітати, не тільки підвищує доступність фосфору з корму, а й знижує антипоживну дію фітатів у результаті зменшення їх концентрації. Зниження антипоживної дії фітатів під дією фітаз пов'язують з їх екстрафосфорним ефектом. У зв'язку з відсутністю надійного лабораторного методу оцінювання ефективності фітаз, рішення про застосування їх препаратів слід приймати на підставі результатів виробничих випробувань, що дасть змогу створювати більш ефективні кормові препарати або добавки.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Крюков В.С., Глебова И.В., Антипов А.А. Оценка действия фитаз в пищеварительном тракте и использование препаратов фитазы в питании животных. Проблемы биологии продуктивных животных. 2019. №2. С. 5–25.
2. Джоунс Г. Как выбрать наилучшую фитазу при составлении рациона. Ценовик. 2014. №10. С. 102–103.
3. Morales G.A., Marquez L., Hernández A.J., Moyano F.J. Phytase effects on protein and phosphorus bioavailability in fish diets. Phytate destruction – consequences for precision animal nutrition. 2016. Ch. 9. P. 129–166. Doi: [https://doi.org/10.3920/978-90-8686-836-0\\_9](https://doi.org/10.3920/978-90-8686-836-0_9)

4. Abelson P.H. A potential phosphorus crisis. *Science*. 1999. no. 283. P. 2015–2015. Doi:<https://doi.org/10.1126/science.283.5410.2015>.
5. Cordell D, Drangert J-O., White S. The story of phosphorus: global food security and food for thought. *Global Environmental Change*. 2009. no. 19. P. 292–305. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009>.
6. Daneshgar S., Callegari A., Capodaglio A., Vaccari D. The Potential Phosphorus Crisis: Resource Conservation and Possible Escape Technologies: A Review. *Resources*. 2018. no. 7. 37 p. Doi:<https://doi.org/10.3390/resources7020037>.
7. Nayini N.R., Markakis P. Phytases. In: Graf, E. (ed.). *Phytic Acid: Chemistry and Applications*. Pilatus Press, Minneapolis, Minnesota. 1986. P. 101–118.
8. Nys Y., Frapin D., Pointillart P. Occurrence of phytase in plants, animals and microorganisms. In: Coelho, M.B. and Kornegay, E.T. Eds *Phytase in Animal Nutrition and Waste Management*. BASF Corporation, Mount Olive, New Jersey. 1996. P. 213–240.
9. Reddy N.R., Sathe S.K., Salunkhe D.K. Phytates in legumes and cereals. *Advances in Food Research*. 1982. Vol. 28. P. 1–92. Doi: [https://doi.org/10.1016/s0065-2628\(08\)60110-x](https://doi.org/10.1016/s0065-2628(08)60110-x).
10. Lott J.N.A., Ockenden I., Raboy V., Batten G. Phytic acid and phosphorus in crop seed and fruits: a global estimate. *Seed Science Research*. 2000. Vol. 10. P. 11–33. Doi:<https://doi.org/10.1017/s0960258500000039>.
11. Raboy V., Young K., Larson S., Cook A. Genetics of Phytic Acid Synthesis and Accumulation. *Food Phytates*. 2001. 62 p. Doi:<https://doi.org/10.1201/9781420014419.ch5>.
12. Costello A.J.R., Glonek T., Myers T.C. <sup>31</sup>P-nuclear magnetic resonance-pH titrations of myo-inositol hexaphosphate. *CarbohydrateResource*. 1976. Vol. 46. P. 159–171.
13. Джоунс Г. Как выбрать наилучшую фитазу при составлении рациона. *Ценовик*. 2014. №10. С. 102–103.
14. Anderson P.A. Interactions between proteins and constituents that affect protein quality. In: *Digestibility and Amino Acid Availability in Cereals and Oilseeds*, (JW Finley and DT Hopkins, editors). St Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, Inc. 1985. P. 31–45.
15. Champagne E.T., Fisher M.S., Hinojosa O. NMR and ESR studies of interactions among divalent cations, phytic acid, and N-acetyl-amino acids. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 1990. no. 38. P. 199–215. Doi:[https://doi.org/10.1016/0162-0134\(90\)84013-f](https://doi.org/10.1016/0162-0134(90)84013-f).
16. Selle P.H., Cowieson A.J., Ravindran V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. *Livestock Science*. 2009. no. 124. P.126–141. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.01.006>.
17. Труфанов О. В. Фитаза в кормлении сельскохозяйственных животных и птицы. Киев: ПолиграфІнко, 2011. 112 с
18. Крюков В., Зиновьев С. Давайте применять правильно биологические понятия! *Комбикорма*. 2015. № 12. С. 89–90.
19. Taylor T.C. The availability of the calcium and phosphorus of plant materials for animals. *Proceedings of the Nutrition Society*. 1965. no. 24. P. 105–112. Doi:<https://doi.org/10.1079/pns19650017>.
20. Nelson T.S. The utilization of phytate phosphorus by the chick—a review. *Poultry Science*. 1967. no. 46. P. 862–871. Doi:<https://doi.org/10.3382/ps.0460862>.
21. Ravindran V. Phytases in poultry nutrition. An overview. *Proceedings, Australian Poultry Science Symposium*. 1995. P. 135–139.
22. Cowieson A.J., Acamovic T., Bedford M.R. Phytic Acid and Phytase: Implications for Protein Utilization by Poultry. *Poultry Science*. 2006. no. 85. P. 878–885. Doi:<https://doi.org/10.1093/ps/85.5.878>.
23. Selle P. H., Cowieson A. J., Cowieson N. P., Ravindran V. Protein–phytate interactions in pig and poultry nutrition: a reappraisal. *Nutrition Research Reviews*. 2012. Vol. 25. P. 1–17. Doi:<https://doi.org/10.1017/s0954422411000151>.
24. Cowieson A.J., Ruckebusch J.P., Sorbara J.O.B., Wilson J.W., Guggenbuhl P., Roos F.F. A systematic view on the effect of microbial phytase on ileal amino acid digestibility in broiler. *Animal Feed Science and Technology*. 2017. Vol. 225. P. 182–194. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2017.01.008>.
25. Menezes-Blackburn D., Gabler S., Greiner R. Performance of seven commercial phytases in an in vitro simulation of poultry digestive tract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015. Vol. 63. P. 6142–6149. Doi:<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01996>.
26. Yu S., Cowieson A., Gilbert C., Plumstead P., Dalsgaard S. Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP1-5) including IP5 isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin. *Journal of Animal Science*. 2012. Vol. 90. P. 1824–1832. Doi:<https://doi.org/10.2527/jas.2011-3866>.
27. Cowieson A. J., Ravindran V. Effect of phytic acid and microbial phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of growing broiler chickens. *British Journal of Nutrition*. 2007. Vol. 98. P. 745–752. Doi:<https://doi.org/10.1017/s0007114507750894>.
28. Jorquera M., Martinez O., Varuyama F., Marschner P., Mora M. Current and future biotechnological applications of bacterial phytases and phytase-producing bacteria. *Microbes and Environments*. 2008. Vol. 23. P. 182–191. Doi:<https://doi.org/10.1264/jsme2.23.182>.
29. Singh B., Satyanarayana T. Fungal phytases: characteristics and amelioration of nutritional quality and growth of non-ruminants. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2015. Vol. 99. P. 646–660. Doi:<https://doi.org/10.1111/jpn.12236>.
30. Sommerfeld V., Künzel S., Schollenberger M., Kühn I., Rodehutschord M. Influence of phytase or myo-inositol supplements on performance and phytate degradation products in the crop, ileum, and blood of broiler chickens. *Poultry Science*. 2017. Vol. 97. P. 920–929. Doi:<https://doi.org/10.3382/ps/pex390>.
31. Qvirist L., Carlsson N.G., Andlid T. Assessing phytase activity—methods, definitions and pitfalls. *Journal of Biological Methods*. 2015. Vol. 2. 16 p. Doi:<https://doi.org/10.14440/jbm.2015.58>.
32. Beeson L. A, Walk C. L., Bedford M. R., Olukosi O. A. Hydrolysis of phytate to its lower esters can influence the growth performance and nutrient utilization of broilers with regular or super doses of phytase. 2017. *Poultry Science*. Vol. 96. P. 2243–2253. Doi:<https://doi.org/10.3382/ps/pex012>.

33. Onyango E.M., Bedford M.R., Adeola O. Phytase activity along the digestive tract of the broiler chick: A comparative study of an *Escherichia coli*-derived and *Peniophora lycii* phytase. *Canadian Journal of Animal Science*. 2005. Vol. 85. P. 61–68. Doi: <https://doi.org/10.4141/a04-067>.
34. Zeller E., Schollenberger M., Kühn I., Rodehutschord M. Hydrolysis of phytate and formation of inositol phosphate isomers without or with supplemented phytases in different segments of the digestive tract of broilers. *Journal of Nutritional Science*. 2015. Vol. 4. Doi: <https://doi.org/10.1017/jns.2014.62>.
35. Mothes R., Schwenke, K.D., Zirwer D., Gast K. Rapeseed protein – polyanion interactions. Soluble complexes between the 2 S protein fraction (napin) and phytic acid. *Food / Nahrung*. 1990. Vol. 34. P. 375–385. Doi: <https://doi.org/10.1002/food.19900340422>.
36. Peter C. M., Parr T. M., Webel D. M., Baker D. H. The effects on phytase on growth performance, carcass characteristics, and bone mineralization of late-finishing pigs fed maize-soyabean meal diets containing no supplemental phosphorus, zinc, copper and manganese. *Animal Feed Science and Technology*. 2001. Vol. 94. P. 199–205. Doi: [https://doi.org/10.1016/s0377-8401\(01\)00300-5](https://doi.org/10.1016/s0377-8401(01)00300-5).
37. Adeola O., Cowieson A.J. Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. *Journal of Animal Science*. 2011. Vol. 89. P. 3189–3218. Doi: <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3715>.
38. Rutherford S.M., Chung T.K., Moughan P.J. The effect of microbial phytase on ileal phosphorus and amino acid digestibility in the broiler chicken. *British Poultry Science*. 2002. Vol. 43. P. 598–606. Doi: <https://doi.org/10.1080/0007166022000004516>.
39. Rutherford S. M., Chung T. K., Thomas D. V., Zou M. L., Moughan P. J. Effect of a novel phytase on growth performance, apparent metabolizable energy, and the availability of minerals and amino acids in a low-phosphorus corn-soybean meal diet for broilers. *Poultry Science*. 2012. Vol. 91. P. 1118–1127. Doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01702>.
40. Sebastian S., Touchburn S.P., Chavez E.R., Lague P.C. Apparent digestibility of protein and amino acids in broiler chickens fed a corn–soybean diet supplemented with microbial phytase. *Poultry Science*. 1997. Vol. 76. P. 1760–1769. Doi: <https://doi.org/10.1093/ps/76.12.1760>.
41. Wu D., Wu S. B., Choct M., Swick R. A. Comparison of 3 phytases on energy utilization of a nutritionally marginal wheat-soybean meal broiler diet. *Poultry Science*. 2015. Vol. 94. P. 2670–2676. Doi: <https://doi.org/10.3382/ps/pev222>.
42. Cowieson A.J. Strategic Selection of Exogenous Enzymes for Corn/soy-based Poultry Diets. *The Journal of Poultry Science*. 2010. Vol. 47. P. 1–7. Doi: <https://doi.org/10.2141/jpsa.009045>.
43. Tran T.T. Thermostable phytase from a *Bacillus* sp. Doctoral Thesis. Department of Biotechnology. Lund University. Sweden. 2010. 124 p. URL: <https://portal.research.lu.se/portal/files/5618703/1730199.pdf>
44. Oh B.C., Choi W.C., Park S., Kim Y.-O., Oh T.K. Biochemical properties and substrate specificities of alkaline and histidine acid phytases. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2004. Vol. 63. P. 362–372. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1345-0>.
45. Vasquez M.V., Glitsoe V. Phytase Unit Myth! URL: [https://www.dsm.com/content/dam/dsm/anh/en\\_US/documents/2012\\_Phytase\\_unit\\_myths.pdf](https://www.dsm.com/content/dam/dsm/anh/en_US/documents/2012_Phytase_unit_myths.pdf) (Accessed 14 May 2019)
46. Leske K., Coon C. A bioassay to determine the effect of phytase on phytate phosphorus hydrolysis and total phosphorus retention of feed ingredients as determined with broilers and laying hens. *Poultry Science*. 1999. Vol. 78. P. 1151–1157. Doi: <https://doi.org/10.1093/ps/78.8.1151>.
47. Kornegay E.T. Digestion of phosphorus and other nutrients: the role of phytases and factors influencing their activity. *Enzymes in farm animal nutrition*. P. 237–271. Doi: <https://doi.org/10.1079/9780851993935.0237>.
48. Butani J. B., Parnerkar S. Role of microbial phytase in broiler nutrition- A review. *Journal of Livestock Science*. 2015. Vol. 6. P. 113–118.
49. Rao D.E.C.S., Rao K.V., Reddy T.P., Reddy V.D. Molecular characterization, physicochemical properties, known and potential applications of phytases: An overview. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2009. Vol. 29. P. 182–198. Doi: <https://doi.org/10.1080/07388550902919571>.
50. Gontia-Mishra I., Tiwars S. Molecular Characterization and Comparative Phylogenetic Analysis of Phytases from Fungi with Their Prospective Applications. *Food Technology and Biotechnology*. 2013. Vol. 51. P. 313–326.
51. Elkhail K.A.I., Manner K., Borriss O.R., Simon O. In vitro and in vivo characteristics of bacterial phytases and their efficacy in broiler chickens. *British Poultry Science*. 2007. Vol. 48. P. 64–70. Doi: <https://doi.org/10.1080/00071660601148195>.
52. Wyss M., Brugger R., Kronenberger A., Rémy R., Fimbel R., Oesterhelt G., Lehmann M., van Loon A. P. Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties. *Applied and environmental microbiology*. 1999. Vol. 65. P. 367–373.
53. Vasquez M.V., Glitsoe V. Phytase Unit Myth! URL: [https://www.dsm.com/content/dam/dsm/anh/en\\_US/documents/2012\\_Phytase\\_unit\\_myths.pdf](https://www.dsm.com/content/dam/dsm/anh/en_US/documents/2012_Phytase_unit_myths.pdf) (Accessed 14 May 2019).

## REFERENCES

1. Krjukov, V.S., Glebova, I.V., Antipov, A.A. (2019). Ocenka dejstvija fitaz v pishhevaritel'nom trakte i ispol'zovanie preparatov fitazy v pitanii zhivotnyh [Evaluation of phytase activity in the digestive tract and the use of phytase preparations in animal nutrition]. *Problemy biologii produktivnyh zhivotnyh* [Problems of the biology of productive animals]. no. 2, pp. 5–25.
2. Dzhouns, G. (2014). Kak vybrat' nailuchshuju fitazu pri sostavlenii raciona [How to choose the best phytase in the preparation of the diet]. *Cenovik* [Of Cost]. no.10, pp. 102–103.
3. Morales, G.A., Marquez, L., Hernández, A.J., Moyano, F.J. (2016). Chapter 9 Phytase effects on protein and phosphorus bioavailability in fish diets. Phytate destruction – consequences for precision animal nutrition, pp.129–166. Available at: [http://doi.org/10.3920/978-90-8686-836-0\\_9](http://doi.org/10.3920/978-90-8686-836-0_9)
4. Abelson, P.H. (1999). A Potential Phosphate Crisis. *Science*. no. 283, pp. 2015–2015. Available at: <http://doi.org/10.1126/science.283.5410.2015>.

5. Cordell, D., Drangert, J.O., White, S. (2009). The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Global Environmental Change*. no. 19, pp. 292–305. Available at: <http://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009>.
6. Daneshgar, S., Callegari, A., Capodaglio, A., Vaccari, D. (2018). The Potential Phosphorus Crisis: Resource Conservation and Possible Escape Technologies: A Review. *Resources*. no. 7, 37 p. Available at: <http://doi.org/10.3390/resources7020037>.
7. Nayini, N.R., Markakis, P. (1986). Phytases. In: Graf, E. (ed.). *Phytic Acid: Chemistry and Applications*. Pilatus Press, Minneapolis, Minnesota, pp. 101–118.
8. Nys, Y., Frapin, D., Pointillart, P. (1996). Occurrence of phytase in plants, animals and microorganisms. In: Coelho, M.B. and Kornegay, E.T. Eds *Phytase in Animal Nutrition and Waste Management*. BASF Corporation, Mount Olive, New Jersey. pp.213–240.
9. Reddy, N.R., Sathe, S.K., Salunkhe, D.K. Phytates in legumes and cereals. *Advances in Food Research*. 1982, Vol. 28, pp. 1–92. Available at: [http://doi.org/10.1016/s0065-2628\(08\)60110-x](http://doi.org/10.1016/s0065-2628(08)60110-x).
10. Lott, J.N.A., Ockenden, I., Raboy, V., Batten, G. (2000). Phytic acid and phosphorus in crop seed and fruits: a global estimate. *Seed Science Research*. Vol. 10, pp. 11–33. Available at: <http://doi.org/10.1017/s0960258500000039>.
11. Raboy, V., Young, K., Larson, S., Cook, A. (2001). Genetics of Phytic Acid Synthesis and Accumulation. *Food Phytates*. 62 p. Available at: <http://doi.org/10.1201/9781420014419.ch5>.
12. Costello, A.J.R., Glonek, T., Myers, T.C. (1976). <sup>31</sup>P-nuclear magnetic resonance-pH titrations of myo-inositol hexaphosphate. *Carbohydrate Resource*. Vol. 46, pp. 159–171.
13. Dzshouns, G. (2014). Kak vybrat' nailuchshuju fitazu pri sostavlenii raciona [How to choose the best phytase in the preparation of the diet]. *Cenovik [Of Cost]*. no.10, pp. 102–103.
14. Anderson, P.A. (1985). Interactions between proteins and constituents that affect protein quality. In: *Digestibility and Amino Acid Availability in Cereals and Oilseeds*, (JW Finley and DT Hopkins, editors). St Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, Inc. P. pp. 31–45.
15. Champagne, E.T., Fisher, M.S., Hinojosa, O. (1990). NMR and ESR studies of interactions among divalent cations, phytic acid, and N-acetyl-amino acids. *Journal of Inorganic Biochemistry*. no. 38, pp. 199–215. Available at: [http://doi.org/10.1016/0162-0134\(90\)84013-f](http://doi.org/10.1016/0162-0134(90)84013-f).
16. Selle, P.H., Cowieson, A.J., Ravindran, V. (2009). Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. *Livestock Science*. no. 124, pp. 126–141. Available at: <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.01.006>.
17. Trufanov, O. V. (2011). Fitaza v kormlenii sel'skohozyajstvennyh zhivotnyh i pticy [Phytase in feeding farm animals and poultry]. Kiev: PolygraphInco, 112 p.
18. Krjukov, V., Zinov'ev, S. (2015). Davajte primenjat' pravil'no biologicheskie ponjatija! [Let's apply biological concepts correctly!]. *Kombikorma [Fodder]*. no. 12, pp. 89–90.
19. Taylor, T.C. (1965). The availability of the calcium and phosphorus of plant materials for animals. *Proceedings of the Nutrition Society*. no. 24, pp. 105–112. Available at: <http://doi.org/10.1079/pns19650017>.
20. Nelson, T.S. (1967). The Utilization of Phytate Phosphorus by Poultry-A Review. *Poultry Science*. no. 46, pp. 862–871. Available at: <http://doi.org/10.3382/ps.0460862>.
21. Ravindran, V. (1995). Phytases in poultry nutrition. An overview. *Proceedings, Australian Poultry Science Symposium*. pp. 135–139.
22. Cowieson, A.J., Acamovic, T., Bedford, M.R. (2006). Phytic Acid and Phytase: Implications for Protein Utilization by Poultry. *Poultry Science*. no. 85, pp. 878–885. Available at: <http://doi.org/10.1093/ps/85.5.878>.
23. Selle, P.H., Cowieson, A.J., Cowieson, N.P., Ravindran, V. (2012). Protein-phytate interactions in pig and poultry nutrition: a reappraisal. *Nutrition Research Reviews*. Vol. 25, pp. 1–17. Available at: <https://doi.org/10.1017/s0954422411000151>.
24. Cowieson, A.J., Ruckebusch, J.P., Sorbara, J.O.B., Wilson, J.W., Guggenbuhl, P., Roos, F.F. (2017). A systematic view on the effect of microbial phytase on ileal amino acid digestibility in broiler. *Animal Feed Science and Technology*. Vol. 225, pp. 182–194. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.01.008>.
25. Menezes-Blackburn, D., Gabler, S., Greiner, R. (2015). Performance of seven commercial phytases in an in vitro simulation of poultry digestive tract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 63, pp. 6142–6149. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01996>.
26. Yu, S., Cowieson, A., Gilbert, C., Plumstead, P., Dalsgaard, S. (2012). Interactions of phytate and myo-inositol phosphate esters (IP1-5) including IP5 isomers with dietary protein and iron and inhibition of pepsin. *Journal of Animal Science*. Vol. 90, pp. 1824–1832. Available at: <https://doi.org/10.2527/jas.2011-3866>.
27. Cowieson, A. J., Ravindran, V. (2007). Effect of phytic acid and microbial phytase on the flow and amino acid composition of endogenous protein at the terminal ileum of growing broiler chickens. *British Journal of Nutrition*. Vol. 98, pp. 745–752. Available at: <https://doi.org/10.1017/s0007114507750894>.
28. Jorquera, M., Martinez, O., Varuyama, F., Marschner, P., Mora, M. (2008). Current and future biotechnological applications of bacterial phytases and phytase-producing bacteria. *Microbes and Environments*. Vol. 23, pp. 182–191. Available at: <https://doi.org/10.1264/jsme2.23.182>.
29. Singh, B., Satyanarayana, T. (2015). Fungal phytases: characteristics and amelioration of nutritional quality and growth of non-ruminants. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. Vol. 99, pp. 646–660. Available at: <https://doi.org/10.1111/jpn.12236>.
30. Sommerfeld, V., Künzel, S., Schollenberger, M., Kühn, I., Rodehutschord, M. (2017). Influence of phytase or myo-inositol supplements on performance and phytate degradation products in the crop, ileum, and blood of broiler chickens. *Poultry Science*. Vol. 97, pp. 920–929. Available at: <https://doi.org/10.3382/ps/pex390>.
31. Qvirist, L., Carlsson, N.G., Andlid, T. (2015). Assessing phytase activity—methods, definitions and pitfalls. *Journal of Biological Methods*. Vol. 2, 16 p. Available at: <https://doi.org/10.14440/jbm.2015.58>.
32. Beeson, L. A, Walk, C. L., Bedford, M. R., Olukosi, O. A. (2017). Hydrolysis of phytate to its lower esters can influence the growth performance and nutrient utilization of broilers with regular or super doses of phytase. *Poultry Science*. Vol. 96, pp. 2243–2253. Available at: <https://doi.org/10.3382/ps/pex012>.



33. Onyango, E.M., Bedford, M.R., Adeola, O. (2005). Phytase activity along the digestive tract of the broiler chick: A comparative study of an Escherichia coli-derived and Peniophora lycii phytase. *Canadian Journal of Animal Science*. Vol. 85, pp. 61–68. Available at: <https://doi.org/10.4141/a04-067>.
34. Zeller, E., Schollenberger, M., Kühn, I., Rodehutschord, M. (2015). Hydrolysis of phytate and formation of inositol phosphate isomers without or with supplemented phytases in different segments of the digestive tract of broilers. *Journal of Nutritional Science*. Vol. 4. Available at: <https://doi.org/10.1017/jns.2014.62>.
35. Mothes, R., Schwenke, K. D., Zirwer, D., Gast, K. (1990). Rapeseed protein – polyanion interactions. Soluble complexes between the 2 S protein fraction (napin) and phytic acid. *Food / Nahrung*. Vol. 34, pp. 375–385. Available at: <https://doi.org/10.1002/food.19900340422>.
36. Peter, C. M., Parr, T. M., Webel, D. M., Baker, D. H. (2001). The effects on phytase on growth performance, carcass characteristics, and bone mineralization of late-finishing pigs fed maize-soyabean meal diets containing no supplemental phosphorus, zinc, copper and manganese. *Animal Feed Science and Technology*. Vol. 94, pp. 199–205. Available at: [https://doi.org/10.1016/s0377-8401\(01\)00300-5](https://doi.org/10.1016/s0377-8401(01)00300-5).
37. Adeola, O., Cowieson, A.J. (2011). Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. *Journal of Animal Science*. Vol. 89, pp. 3189–3218. Available at: <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3715>.
38. Rutherford, S.M., Chung, T.K., Moughan, P.J. (2002). The effect of microbial phytase on ileal phosphorus and amino acid digestibility in the broiler chicken. *British Poultry Science*. Vol. 43, pp. 598–606. Available at: <https://doi.org/10.1080/0007166022000004516>.
39. Rutherford, S. M., Chung, T. K., Thomas, D. V., Zou, M. L., Moughan, P. J. (2012). Effect of a novel phytase on growth performance, apparent metabolizable energy, and the availability of minerals and amino acids in a low-phosphorus corn-soybean meal diet for broilers. *Poultry Science*. Vol. 91, pp. 1118–1127. Available at: <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01702>.
40. Sebastian, S., Touchburn, S.P., Chavez E. R., Lague, P. C. (1997). Apparent digestibility of protein and amino acids in broiler chickens fed a corn–soybean diet supplemented with microbial phytase. *Poultry Science*. Vol. 76, pp. 1760–1769. Available at: <https://doi.org/10.1093/ps/76.12.1760>.
41. Wu, D., Wu, S.B., Choct, M., Swick, R.A. (2015). Comparison of 3 phytases on energy utilization of a nutritionally marginal wheat-soybean meal broiler diet. *Poultry Science*. Vol. 94, pp. 2670–2676. Available at: <https://doi.org/10.3382/ps/pev222>.
42. Cowieson, A.J. (2010). Strategic Selection of Exogenous Enzymes for Corn/soy-based Poultry Diets. *The Journal of Poultry Science*. Vol. 47, pp. 1–7. Available at: <https://doi.org/10.2141/jpsa.009045>.
43. Tran, T.T. (2010). Thermostable phytase from a Bacillus sp. Doctoral Thesis. Department of Biotechnology. Lund University. Sweden, 124 p. Available at: <https://portal.research.lu.se/portal/files/5618703/1730199.pdf>
44. Oh, B.C., Choi, W.-C., Park, S., Kim, Y.-O., Oh, T.K. (2004). Biochemical properties and substrate specificities of alkaline and histidine acid phytases. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 63, pp. 362–372. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1345-0>.
45. Vasquez, M.V., Glitsoe, V. Phytase Unit Myth! Available at: [https://www.dsm.com/content/dam/dsm/anh/en\\_US/documents/2012\\_Phytase\\_unit\\_myths.pdf](https://www.dsm.com/content/dam/dsm/anh/en_US/documents/2012_Phytase_unit_myths.pdf) (Accessed 14 May 2019)
46. Leske, K., Coon, C. (1999). A bioassay to determine the effect of phytase on phytate phosphorus hydrolysis and total phosphorus retention of feed ingredients as determined with broilers and laying hens. *Poultry Science*. Vol. 78, pp. 1151–1157. Available at: <https://doi.org/10.1093/ps/78.8.1151>.
47. Kornegay, E.T. Digestion of phosphorus and other nutrients: the role of phytases and factors influencing their activity. *Enzymes in farm animal nutrition*. pp. 237–271. Available at: <https://doi.org/10.1079/9780851993935.0237>.
48. Butani, J. B., Parnerkar, S. (2015). Role of microbial phytase in broiler nutrition- A review. *Journal of Livestock Science*. Vol. 6, pp. 113–118. Available at: <http://livestockscience.in/wp-content/uploads/phytase-broiler.pdf> (Accessed 21 May 2019).
49. Rao, D. E. C. S., Rao, K. V., Reddy, T. P., Reddy, V. D. (2009). Molecular characterization, physicochemical properties, known and potential applications of phytases: An overview. *Critical Reviews in Biotechnology*. Vol. 29, pp. 182–198. Available at: <https://doi.org/10.1080/07388550902919571>.
50. Gontia-Mishra I., Tiwars, S. (2013). Molecular Characterization and Comparative Phylogenetic Analysis of Phytases from Fungi with Their Prospective Applications. *Food Technology and Biotechnology*. Vol. 51, pp. 313–326.
51. Elkhailil, K.A.I., Manner, K., Borriss, O.R., Simon, O. (2007). In vitro and in vivo characteristics of bacterial phytases and their efficacy in broiler chickens. *British Poultry Science*. Vol. 48, pp. 64–70. Available at: <https://doi.org/10.1080/00071660601148195>.
52. Wyss, M., Brugger, R., Kronenberger, A., Rémy, R., Fimbel, R., Oesterhelt, G., Lehmann, M., van Loon, A. P. (1999). Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties. *Applied and environmental microbiology*. Vol. 65(2), pp. 367–373. Available at: PubMed PMID: 9925555; PubMed Central PMCID: PMC91034.
53. Vasquez, M.V., Glitsoe, V. Phytase Unit Myth! Available at: [https://www.dsm.com/content/dam/dsm/anh/en\\_US/documents/2012\\_Phytase\\_unit\\_myths.pdf](https://www.dsm.com/content/dam/dsm/anh/en_US/documents/2012_Phytase_unit_myths.pdf) (Accessed 14 May 2019)

#### **Антипитательное действие фитатов – экстрафосфорный эффект фитазы**

**А.П. Решетниченко, В.С. Крюков, П.П. Антоненко, Л.А. Тарасенко, И.В. Глебова, С.В. Зиновьев, О.Т. Пивень, А.А. Антипов, Р.В. Милостивый**

Увеличение продукции животноводства и птицеводства может быть достигнуто при эффективном использовании кормов, в том числе растительных. Однако известно, что в состав кормов растительного происхождения входят антипитательные вещества (фитиновая кислота или её соли), снижающие доступность содержащихся в рационе питательных веществ. Целью обзора было описание действия фитатов в организме и обоснование выбора кормовых

фитаз для кормопроизводства. Фосфор отвечает за поступление энергии для обменных процессов в организме, играет важную роль в обмене белков, жиров и углеводов, в синтезе ферментов, гормонов, витаминов, вместе с кальцием он обеспечивает стабильность скелета животных. Однако преобладающая часть фосфора в растительных кормах недоступна для животных, поскольку она представлена фитатами, которые не расщепляются в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Фитаты, попадая в кислую среду желудка, ионизируются и вступают в реакции с положительно заряженными минералами, белками, аминокислотами, формируя соединения, недоступные для дальнейшего переваривания. Доступность фосфора из фитатов обеспечивается включением в корм фитазы, которая не только расщепляет фитаты, но и в результате снижения концентрации уменьшает их антипитательное действие. Современные данные свидетельствуют о том, что фитаты содержат в своей основе труднорастворимый фосфор и затрудняют использование других биологически активных питательных веществ корма. Обогащение рациона микробной фитазой делает более доступными также кальций, цинк и медь, улучшает переваримость корма и стимулирует прирост живой массы. Определение активности фитазы лабораторным методом не позволяет сделать вывод об ожидаемой её эффективности при использовании в кормах для животных. Проведение таких сложных исследований с применением динамического моделирования процессов пищеварения в лабораторных условиях в настоящее время практически невозможно. Решение о целесообразности включения фитазы в корма принимают на основании производственных испытаний предлагаемых препаратов.

**Ключевые слова:** корма для животных, ферменты, фитаза, антипитательное действие фитатов, экстрафосфорный эффект фитазы, активность кормовых препаратов фитазы.

#### **Anti-nutritional effect of phytates – extraphosphoric effect of phytase**

**Reshetnichenko O., Kryukov V., Antonenko P., Tarasenko L., Glebova I., Zinoviev S., Piven O., Antipov A., Mylostyyvi R.**

The increase of animal and poultry production can be achieved by the effective use of fodder, including vegetable feed. However, it is known that the vegetable feed can contain anti-nutrients (phytic acid or its salts). They reduce the nutrient availability in the diet. That is why, the research aim is the description of the phytate influence on the body and the definition of the right feed phytases for fodder production.

Phosphorus is responsible for the energy supply to the body for metabolic processes. It plays a significant role in the metabolism of proteins, fats and carbohydrates. It takes part in the synthesis of enzymes, hormones, vitamins. Phosphorus ensures the stability of the skeleton of animals along with calcium. However, the predominant part of phosphorus is not available for animals in the vegetable feed as it is presented by phytates, which do not split in the gastrointestinal tract (GIT) of animals. When phytates get into the acidic environment of the stomach they ionize and react with positively charged minerals, proteins, amino acids creating compounds that are inaccessible for further digestion. The availability of phosphorus from phytates is provided by the phytase adding to the fodder, which not only splits phytates, but also reduces their anti-nutritional effect by concentration decreasing.

From the present-day data it is known that phytates contain difficult soluble phosphorus. They also make it difficult to absorb another biologically active nutrients from fodder. The enrichment of the animal diet with microbial phytase makes calcium, zinc and copper be more accessible. It improves digestibility of food and stimulates weight gain. Phytase activity determined by the laboratory method does not allow to make up a conclusion about its expected effectiveness for animals. At present it is almost impossible to conduct such complex research and to use the dynamic modeling of digestion processes in the laboratory. The decision about the appropriate use of proposed preparations with phytase in the fodder is made on the basis of the production test.

**Keywords:** animal feed, enzymes, phytase, anti-nutritional effect of phytates, extra phosphoric effect of phytase, activity of the feed preparations of phytase.

*Надійшла 15.03.2019 р.*