



27. AUGUST

NR. 675

Fytinsyre og fytaseaktivitet i foderstoffer

Sigurd Boisen
Centrallaboratoriet

I forbindelse med udviklingen af en ny metode til bestemmelse af fytinsyre i foderstoffer, er der udført en række orienterende undersøgelser med relation til fytinsyrens ernæringsmæssige betydning. Af undersøgelserne fremgik det, at fytinsyrebundet fosfor udgør 75-83% af det totale fosforindhold i kernen fra de forskellige kornarter. Dette svarer til et fytinsyreindhold på ca. 1% af tørstoffet. I skrå fra soyabønner og raps blev fytinsyreindholdet bestemt til ca. 1.5% og i hvedekliid til 3% af tørstoffet.

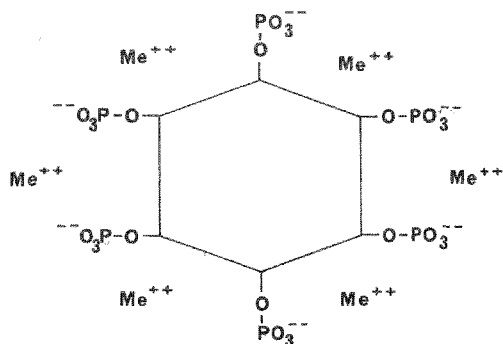
Aktiviteten af fytase, der er et fytinsyrespaltende enzym, varierede betydeligt i kernen fra de forskellige kornarter. Fytaseaktiviteten blev målt til at være højest i rug og hvede, medens majs og havre tilsyneladende ikke indeholdt aktivt fytase. Fytinsyren i majs og havre kunne imidlertid nedbrydes ved tilsætning af rug eller hvede. Fytasen var aktiv mellem pH 3 og pH 8 med optimum ved pH 5. Fytaseaktiviteten i rug var forholdsvis stabil under inkubation med pepsin ved pH 2 og med trypsin og chymotrypsin ved pH 7. Alligevel kunne der ikke måles nogen fytaseaktivitet i tilfældige gødningsprøver fra svin, kvæg og høns. Desuden viste analyseresultaterne af fytinsyre i gødningen, at en betydelig del af foderstoffernes fytinbundne fosfor ofte ikke fordøjes.

Indledning

Fytinsyre er betegnelsen for den hexavalente fosforsyreester af inositol (fig. 1). I de fleste frø (herunder også kernerne fra de forskellige kornarter) er størstedelen af frøets fosfor (som fosfat) indbygget i fytinsyre. Denne forbindelse udgør således et fosfordepot, idet det fytatbundne fosfat frigøres under frøets spiring af enzymet fytase, hvorefter de frie fosfatmolekyler anvendes til opbygning af bl.a. ATP, DNA og RNA i den udviklende kimplante.

Fytinsyre danner tungtopløselige salte ved neutralt pH med di- og trivalente kationer, herunder calcium, magnesium, zink, kobber, jern osv. Endvidere dannes der komplekse forbindelser mellem fytinsyre, mineralstoffer og protein. Foderstoffernes indhold af fytinsyre påvirker således ikke kun tilgængeligheden af det fytinbundne fosfat, men også fordøjelsen af makro- og mikromineralstoffer, samt muligvis også af protein.

Det er derfor af interesse, dels at kende de enkelte foderstoffers indhold af fytinsyre, dels at un-



Figur 1. Fytat: Komplex salt af fytinsyre (inositolhexafosforsyre) med di- (evt. tri-) valente metalioner.

dersøge de faktorer, der betinger fytinsyrens nedbrydning i mave-tarmkanalen. I fordøjelseskanalens sekreter findes tilsyneladende ingen eller kun lidt fytaseaktivitet (i form af uspecifikke fosfataser). Til gengæld indeholder en del frø allerede i uspiret tilstand en aktiv fytase. For at vurdere dette enzyms betydning i forbindelse med fordøjelsen af foderstoffer, må man først og fremmest bestemme fytaseaktiviteten i foderet, men også aktivitetens pH-afhængighed og enzymets stabilitet over for de proteolytiske enzymer i mave-tarmkanalen må fastlægges.

Denne meddelelse redegør for nogle af de undersøgelser, der blev foretaget i forbindelse med udviklingen af nye analysemetoder til bestemmelse af foderstoffers indhold af fytinsyre og fytaseaktivitet.

Materialer og metoder

Fytinsyre

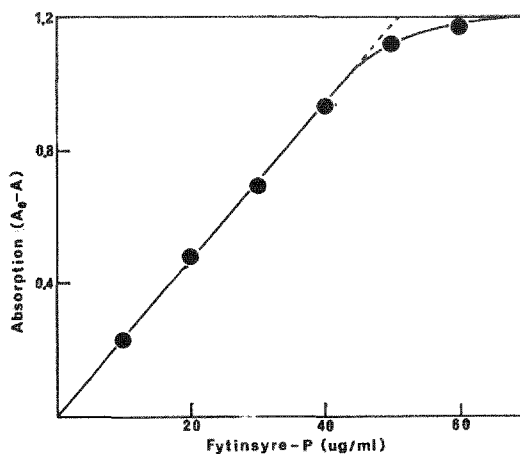
En formalet prøve ekstraheres med 0,2 M saltsyre ved 37° C i 1 time. Efter centrifugering fældes den opløste fytinsyre ved inkubering med en opløsning af ferriioner ved 100° C i 1 time. Overskuddet af opløste ferriioner bestemmes spektrofotometrisk efter en farvereaktion med 2,2'-bipyridin, hvorefter koncentrationen af fytinsyre i prøven beregnes på grundlag af en standard med ren fytinsyre. Resultatet angives som fytinsyre-P i % af tørstof.

Fytaseaktivitet

Fytaseaktiviteten bestemmes på grundlag af forskellen i fytinsyrebestemmelsen med og uden en forudgående inkubering i en buffer ved pH 5,5 (37° C, 15 min.). Ved dette pH nedbrydes fytinsyren af eventuelt tilstedeværende endogent fytase, hvis aktivitet stoppes ved tilsætning af saltsyre til samme koncentration som ved fytinsyrebestemmelsen ovenfor. Fytaseaktiviteten udtrykkes i ug fytinsyre-P frigivet pr. min. pr. g tørstof.

Resultater og diskussion

Det fremgår af fig. 2, at standardkurven for ren fytinsyre er retlinet op til ca. 85% af den maksimale værdi (blindværdien). Imidlertid er tilsva-



Figur 2. Standardkurve for fytinsyre-P.

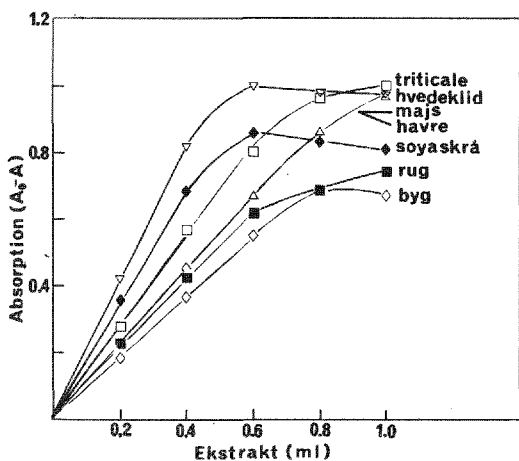
rende fortyndingskurver for prøveekstrakter ikke retlinede i samme grad (fig. 3), hvorfor det er nødvendigt at undersøge graden af retlinethed i de forskellige prøvetyper. For alle undersøgte prøvetyper gælder det dog, at fortyndingskurven er retlinet op til mindst 50% af blindværdien.

Resultaterne for fytinsyreindholdet i en række almindelige foderstoffer fremgår af tabel 1. Indholdet i forskellige kornarters kerner ligger gennemgående på ca. 1% af tørstoffet, medens det fytinsyrebundne fosfor udgør 0,2-0,3% af tørstoffet svarende til ca. 80% af kernernes totale fosforindhold.

Tabel 1. Fytinsyre (% af tørstof) og fytaseaktivitet (ug frigjort fosfor/min pr. g tørstof) i nogle almindelige foderstoffer samt gødning

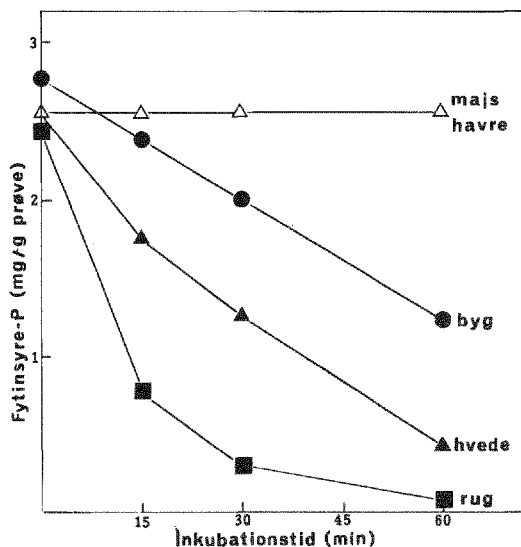
| | Fytinsyre | Fytinsyre-P | Total-P | Fytinsyre-P % af total-P | Fytase- aktivitet |
|-------------------|-----------|-------------|---------|-----------------------------|----------------------|
| Byg | 0.96 | 0.27 | 0.35 | 78 | 24 |
| Rug | 0.82 | 0.23 | 0.30 | 77 | 115 |
| Hvede | 0.85 | 0.24 | 0.32 | 75 | 53 |
| Triticale | 0.96 | 0.27 | 0.34 | 79 | 70 |
| Majs | 0.85 | 0.24 | 0.29 | 83 | 0 |
| Havre | 0.85 | 0.24 | 0.32 | 75 | 0 |
| Hvedeklid | 2.98 | 0.84 | 0.99 | 85 | 150 |
| Ærter | 0.85 | 0.24 | 0.39 | 62 | 5 |
| Soyaskrå | 1.31 | 0.37 | 0.68 | 54 | 0 |
| Rapsskrå | 1.56 | 0.44 | 1.20 | 37 | 0 |
| Hø | 0.00 | 0.00 | 0.28 | 0 | 0 |
| Gødning (gris) | 1.35 | 0.38 | 2.10 | 18 | 0 |
| Gødning (kvæg) | 0.53 | 0.15 | 1.02 | 15 | 0 |
| Gødning (kylling) | 2.49 | 0.70 | 1.46 | 48 | 0 |

Inkubering af ekstrakter ved pH 5.5 medførte en reduktion i fytinsyreindholdet i en del af de undersøgte foderstoffer (fig. 4). Dette skyldes indholdet af endogent fytaseaktivitet, der giver anledning til en fraspaltning af fosfatgrupperne, hvorved der dannes inositol og inositolfosfater med 1-5 fosfatgrupper pr. inositolmolekyle. Tab af fosfatgrupper medfører en nedsat evne til at danne tungtopløselige komplekser med di- og trivalente metalioner, og denne evne er helt forsvundet i inositolfosfater med 3 eller færre fosfatgrupper.



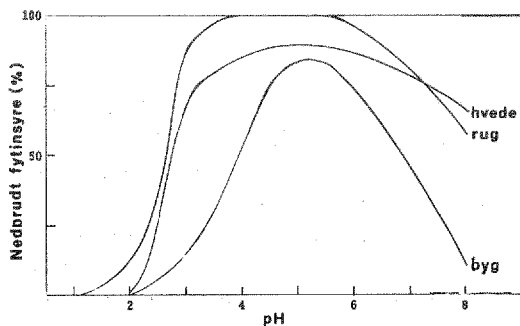
Figur 3. Fortyndingskurver af ekstraheret fytinsyre fra forskellige kornarter.

Det fremgår af figur 4 og tabel 1, at fytaseaktiviteten varierer betydeligt i de forskellige kornarter. Majs og havre indeholder tilsyneladende ikke aktivt fytase i uspirede kerner, ligesom en eventuel aktivitet er gået tabt ved fremstillingen af soyaskrå og rapsskrå. Tilsætning af aktivt fytase (fra rug eller hvede) til majs eller havre gav dog en lige så hurtig nedbrydning af fytinsyren i disse prøver, som af fytinsyren i de fytaseholdige prøver.



Figur 4. Fytaseaktivitet i forskellige kornarter.

Ved bestemmelse af restkoncentrationen af fytinsyre efter inkubation i en buffer med pH varierende fra 1-8 (37° C, 2 timer) kunne det konstateres, at fytaseaktiviteten er optimal ved pH 5, men også at enzymet er aktivt over et temmeligt bredt interval, der strækker sig fra pH 3 til pH 8 (fig. 5),



Figur 5. Fytaseaktivitetens pH-afhængighed.

hvilket betyder, at der kan ske en nedbrydning af fytinsyre overalt i fordøjelsessystemet, såfremt der er aktivt fytase til stede. Endvidere viste fore-

løbige undersøgelser over fytaseaktivitetens stabilitet over for pepsin ved pH 2 og over for trypsin og chymotrypsin ved pH 7, at fytasen i rug var forholdsvis stabil ved disse betingelser.

Orienterende undersøgelser af gødningsprøver fra forskellige dyrearter (tabel 1) viste imidlertid, dels at en eventuel fytaseaktivitet i foderet helt var forsvundet i gødningen, dels at der var væsentlige mængder fytinsyre tilbage i gødningen i forhold til den mængde, der kan forventes at have været i foderet.

De opnåede resultater viser således, at selv om mange foderstoffer indeholder fytase med potentielle muligheder for at nedbryde det tilstedeværende fytinsyre, er der alligevel ofte væsentlige mængder unedbrudt fytinsyre tilbage i gødningen. Man må derfor i disse tilfælde forvente en negativ virkning på fordøjeligheden af makro- og mikromineralstofferne og måske også af protein.

En klarlægning heraf, samt af hvilke faktorer, der påvirker nedbrydningen af såvel fytinsyren som fytasen i fordøjelseskanaalen, kræver imidlertid mere direkte undersøgelser i forbindelse med fordøjelsesforsøg.