

## Effekt einer Zulage mikrobieller Phytase auf die Zinkverfügbarkeit

G. Rimbach und J. Pallauf

Institut für Tierernährung der Justus-Liebig-Universität Gießen

### Effect of an addition of microbial phytase on zinc-availability

**Zusammenfassung:** In einem 3wöchigen Stoffwechselexperiment mit 35 (5x7) männlichen, einzeln gehaltenen Albinoratten (Anfangsmasse 50 g) wurde geprüft, ob eine Zulage an mikrobieller Phytase die Bioverfügbarkeit von Zink aus einer phytathaltigen Diät beeinflußt. Den Ratten wurde eine halbsynthetische Diät auf der Basis von Eiklarprotein und Maisstärke verabreicht, die mit 20 mg Zn/kg Diät supplementiert wurde. Die Kontrollgruppe (Gruppe I) erhielt die phytat- und phytasefreie Basisdiät. Durch teilweisen Austausch der Maisstärke durch 0,5 % (Gruppe II) bzw. 1,0 % Phytat (Gruppe III) als Na-Phytat wurden PA : Zn-Quotienten von 25 bzw. 50 : 1 eingestellt. In den Gruppen IV (0,5 % PA) und V (1,0 % PA) wurden jeweils 1000 U Phytase/kg Diät zugelegt. Die Zulage des Na-Phytats führte zu einer dosisabhängigen Depression des Wachstums sowie zu einer Verschlechterung der Futterverwertung in den Gruppen II und III. Diese Effekte wurden durch die Zulage von 1000 U Phytase/kg Diät vollständig (Gruppe IV) bzw. teilweise (Gruppe V) kompensiert. Ebenso wurden die scheinbare Absorption und Retention des Zinks, die Zn-Konzentration in Femur und Testes sowie verschiedene Zn-Statusparameter in Plasma (Zn-Konzentration, freie Zn-Bindungskapazität, Aktivität der Alkalischen Phosphatase) durch die Phytasesupplementierung positiv beeinflußt. In der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, daß bei der wachsenden Ratte durch eine Zulage mikrobieller Phytase die Bioverfügbarkeit des Zinks in phytatreichen Diäten sehr deutlich gesteigert werden kann.

**Summary:** A study of 35 (5 x 7) male, individually housed, albino rats (initial average weight = 50 g) was undertaken to examine the effect of an addition of microbial phytase to a diet containing phytate on the availability of zinc. The rats were fed a semisynthetic diet based of egg white and cornstarch over a 3-week period. All diets were supplemented with 20 mg Zn/kg. Group I (control) was fed the basal diet free of phytic acid (PA) and phytase. By replacing cornstarch by Na-phytate (0.5 % in group II and 1.0 % group III), molar phytate : Zn ratios of 25 and 50 : 1 were obtained, respectively. In groups IV (0.5 % PA) and V (1.0 % PA) 1000 U of microbial phytase were added. A molar phytate : Zn ratio of 25 (group II) and 50 : 1 (group III) resulted in a dose-dependent depression of growth and feed efficiency ratio. These negative effects of the addition of PA could be completely counteracted by the supplementation of 1000 U of phytase in group IV and partially so in group V. Similarly, the apparent absorption and

### Abbreviation Index:

AAS	Atomabsorptionsspektroskopie	M	Mean (Mittelwert)
AP	Alkalische Phosphatase	PA	Phytic acid (Phytinsäure)
fr. ZBK	freie Zink-Bindungskapazität	SD	Standard deviation (Standardabweichung)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	TM	Trockenmasse

retention of Zn, Zn-concentration in femur and testes and different Zn-status-parameters in plasma (Zn-concentration, percent unsaturated plasma-Zn binding capacity, activity of alkaline phosphatase) were improved by adding 1000 U microbial phytase/kg diet. The present study shows that an addition of microbial phytase to phytate-rich diets considerably improves the availability of Zn in growing rats.

**Schlüsselwörter:** Zink – Phytat – mikrobielle Phytase – Zink-Absorption – Zink-Status

**Key words:** Zinc – phytate – microbial phytase – zinc-absorption – zinc-status

### **Einleitung**

Die Bioverfügbarkeit von Zink sowie anderer essentieller divalenter Kationen wird durch eine Vielzahl von Nahrungsfaktoren sowie intraluminalen Austausch- und Konkurrenzprozessen antagonistisch und synergistisch beeinflußt. Phytinsäure, der Hexaphosphorsäureester des myo-Inositals, wird aufgrund der Eigenschaft, mit verschiedenen Mengen- und Spurenelementen schwerlösliche Komplexe zu bilden, im allgemeinen als antinutritiver Faktor bezeichnet. In zahlreichen Experimenten an der Laborratte konnte ein direkter Zusammenhang zwischen dem molaren PA : Zn-Quotienten und der Zn-Verfügbarkeit nachgewiesen werden (4, 6, 11, 15). Molare PA : Zn-Quotienten >20 : 1 führen bei der Ratte zu einem reduzierten Zn-Status (19).

Eine Reihe von Untersuchungen hatte zum Ziel, die Bioverfügbarkeit des Zinks durch die Zulage von Chelatbildnern bzw. niedermolekularen Liganden zu erhöhen (22, 26, 27, 29). Darüber hinaus wurde versucht, durch zahlreiche technische Verfahren und Methoden, wie Dialyse (32), Ultrafiltration (2, 23) und Extraktion (8) die PA-Konzentration in biologischen Matrices zu reduzieren und somit die Mineralstoffverwertung zu verbessern.

Eine wesentliche Voraussetzung für die Verwertung der durch PA komplexierten Mineralstoffe besteht in der hydrolytischen Spaltung der esterartig gebundenen Phosphatgruppen des PA-Chelat-Komplexes durch Phytasen endogenen, pflanzlichen oder mikrobiellen Ursprungs. Die Existenz endogener Phytasen in der Mucosa des Gastrointestinaltraktes des Monogasters wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Auf der einen Seite gibt es Hinweise über körpereigene Phytasen (1, 3, 17, 34), auf der anderen Seite wird die Meinung vertreten, daß in beschränktem Umfang eine unspezifische PA-Hydrolyse durch die Alkalische Phosphatase (18) oder durch PA-spaltende Darmbakterien (9) stattfindet. In jüngster Zeit wird über die Einsatzmöglichkeiten mikrobieller Phytasen berichtet. Im Gegensatz zu den pflanzlichen Phytasen besitzen *Aspergillus*-Phytasen neben einem pH-Optimum im Bereich von 5,5 ein weiteres Optimum im stark sauren Bereich (31, 33), so daß eine PA-Hydrolyse bereits im gastralnen Milieu möglich erscheint. Im Vordergrund des Interesses bisheriger Untersuchungen über die Einsatzmöglichkeiten mikrobieller Phytasen beim Monogaster stand in erster Linie eine Verbesserung der Ca- und P-Verwertung (20, 24, 31). Der Einfluß mikrobieller Phytasen auf die Spurenelementverwertung bei der Ratte wurde bisher nur sehr unzureichend untersucht. Ziel der vorliegenden Studie an wachsenden Ratten war es deshalb zu prüfen, ob durch eine nutritive Zulage mikrobieller Phytase die Bioverfügbarkeit des Zinks bei variierenden molaren PA : Zn-Quotienten in der Diät beeinflußt werden kann.

## Material und Methoden

Als Versuchstiere wurden 35 (5 x 7) männliche Albinoratten (durchschnittliche Anfangsmasse 50 g) des institutseigenen Inzuchtstammes HK 51 im Alter von 4 Wochen eingesetzt. Die Tiere wurden während des 21-tägigen Versuchszeitraumes unter Standardbedingungen (22 °C, 55 % rel. Luftfeuchte, 12 Stunden Hell-Dunkel-Rhythmus) einzeln in speziellen Stoffwechselkäfigen aus Makrolon gehalten. Die mehligen Versuchsdäten (TM = 92 %) sowie entionisiertes Reinstwasser standen zur freien Aufnahme zur Verfügung. Die Lebendmasse der Ratten wurde wöchentlich ermittelt. In der zweiten Versuchswoche (Tag 7–14) erfolgte eine Stoffwechselperiode mit quantitativer Kot- und Harnsammlung. Die Ratten wurden mit einer halbsynthetischen Diät auf der Basis von Eiklarprotein und Maisstärke gefüttert (Tab. 1).

Tab. 1. Zusammensetzung der Basisdiät

Komponente	g/kg
Eiklarprotein	200
Maisstärke	477
Saccharose	100
Sojaöl	70
Cellulose	30
L-Lysin-HCl	3
Mineralstoffvormischung*)	100
Vitaminvormischung**)	20
	1 000

\*) Mineralstoffe (p.a.-Qualität) je kg Diät: CaHPO<sub>4</sub> x 2 H<sub>2</sub>O 26,73 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 6,68 g; MgSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O 5,07 g; CaCO<sub>3</sub> 4,43 g; NaCl 2,47 g; Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1,22 g; FeSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O 298,68 mg; MnSO<sub>4</sub> x H<sub>2</sub>O 184,59 mg; ZnSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O 87,99 mg; CuSO<sub>4</sub> x 5 H<sub>2</sub>O 27,50 mg; (CH<sub>3</sub>COO)<sub>3</sub>Cr 4,41 mg; CoSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O 2,38 mg; NaF 2,21 mg; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> x 5 H<sub>2</sub>O 0,83 mg; KJ 0,65 mg; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> x 2 H<sub>2</sub>O 0,25 mg

\*\*) Vitaminzusatz je kg Diät: Retinol 1,8 mg RE; Cholecalciferol 0,025 mg; D,L-α-Tocopherylacetat 100 mg D-α-TE; Menadion 5 mg; Ascorbinsäure 30 mg; Thiaminmononitrat 8 mg; Riboflavin 10 mg; Pyridoxin 10 mg; Niacin 40 mg; Ca-D-Pantothenat 30 mg; Folsäure 3 mg; p-Aminobenzoesäure 10 mg; Biotin 0,2 mg; Cobalamin 0,05 mg; myo-Inositol 100 mg; Cholinchlorid 1150 mg

Der Zn-Gehalt sämtlicher Diäten sollte einheitlich 20 mg/kg betragen. Die Ca-Konzentration aller Diäten wurde auf 8 g/kg eingestellt. Gruppe I (Kontrolle) erhielt die PA- und phytasefreie Basisdiät. Durch teilweisen Austausch der Maisstärke durch 0,5 % bzw. 1,0 % PA in Form von NaPA wurden in den Gruppen II und III molare PA : Zn-Quotienten von 25 bzw. 50 : 1 eingestellt. In den Gruppen IV (0,5 % PA) und V (1,0 % PA) wurden jeweils 1 000 U Phytase/kg Diät eines rekombinanten Stammes von *Aspergillus niger* (Natuphos®, BASF AG, Ludwigshafen) zugelegt. Die analytisch ermittelten Gehalte an Zn und PA, die Phytaseaktivität sowie die errechneten molaren PA : Zn-Quotienten (Tab. 2) zeigten eine gute Übereinstimmung mit den Erwartungswerten.

Zu Versuchsende wurden die Ratten nach Chloroformbetäubung dekapitiert, das Blut wurde aufgefangen und das Plasma durch Zentrifugation gewonnen. Leber, Testes, der rechte Femur und der Caecumchymus wurden sofort entnommen und bis zur weiteren Analyse bei -22 °C aufbewahrt.

Die Bestimmung der PA in den Diäten und im Caecumchymus erfolgte mittels HPLC (21). Die Phytaseaktivität in den Diäten wurde anhand des freigesetzten anorganischen Phosphats in Anlehnung an Fretzendorff und Weipert (7) bestimmt, wobei anstelle von 55 °C bei 37 °C über einen Zeitraum von 30 Minuten inkubiert wurde.

Tab. 2. Analytisch ermittelte Gehalte der Diäten an Zink, Phytinsäure und Phytaseaktivität sowie molare PA: Zn-Quotienten (Angaben bezogen auf Frischmasse).

Gruppe	n	Zn (mg/kg)	PA (%)	Phytase (U/kg)	PA : Zn (molar)
I	7	21,3	-	-	-
II	7	21,1	0,48	-	23 : 1
III	7	21,4	1,03	-	48 : 1
IV	7	21,3	0,48	925	22 : 1
V	7	21,4	1,00	932	47 : 1

Der Zn-Gehalt in den Organen und Geweben sowie in den gefriergetrockneten Kot- und Harnproben wurde nach Trockenveraschung, die Zn-Konzentration des Blutplasmas direkt nach Verdünnung mit 0,3 N HCl mittels Flammen-AAS (Philips PU 9485) gemessen. Die Bestimmung der prozentualen freien Zn-Bindungskapazität wurde nach der Methode von Kincaid und Cronrath (13) in der Modifikation von Roth und Kirchgessner (28) durchgeführt. Die Aktivität der Alkalischen Phosphatase (E.C. 3.1.3.1) wurde unter Verwendung von Diethanolaminpuffer und p-Nitrophenylphosphat nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (5) bestimmt.

Die statistische Auswertung umfaßte die Prüfung auf Varianzhomogenität sowie die einfaktorielle Varianzanalyse (Prozedur ONEWAY) mit anschließendem Signifikanztest nach Scheffé. Signifikante Unterschiede von mindestens  $P < 0,05$  sind in Form von unterschiedlichen Kleinbuchstaben gekennzeichnet. Die in den Tabellen angegebenen Ergebnisse stellen jeweils den Gruppenmittelwert (M) sowie die Standardabweichung der Einzelwerte (SD) dar.

## Ergebnisse und Diskussion

In der vorliegenden Untersuchung konnte in Übereinstimmung mit der Literatur (4, 11, 15, 26) eine dosisabhängige Depression des Wachstums in Abhängigkeit vom eingestellten molaren PA : Zn-Quotienten beobachtet werden (Abb. 1). Die Zulage von Phytase ergab dabei deutliche Verbesserungen. Ebenso wurde die Futterverwertung (Futterverbrauch pro g Lebendmassezuwachs) durch die Zulage von 0,5 % (Gruppe II) bzw. 1,0 % PA (Gruppe III) signifikant auf 2,87 bzw. 3,74 gegenüber 2,28 in der Kontrolle (Gruppe I) verschlechtert. Gruppe V (1,0 % PA + 1000 U) lag mit einer Futterverwertung von 2,68 etwas besser als Gruppe II. Die Futterverwertung der Gruppe IV (0,5 % PA + 1000 U) betrug 2,26 und war somit mit der von Gruppe I sehr gut vergleichbar.

Unter definierten Bedingungen eines Tierversuches gelten die Plasma-Zn-Konzentration, die freie Zn-Bindungskapazität sowie die Aktivität des Zn-Metalloenzymes Alkalische Phosphatase, insbesondere im marginalen Versorgungsreich, als sensitive Parameter zur Beurteilung des Zn-Status (13, 28, 30). In den Gruppen II und III mit einem molaren PA : Zn-Quotienten von 25 bzw. 50 : 1 war die Plasma-Zn-Konzentration um 64 % bzw. 73 % gegenüber der Kontrolle reduziert (Tab. 3). Entsprechend wurde die freie Zn-Bindungskapazität (Tab. 3) durch die unterschiedlichen Behandlungsformen beeinflußt, wobei zwischen beiden Zn-Statusparametern in Übereinstimmung mit anderen Autoren (13, 25, 28) eine sehr enge Korrelation bestand ( $r = 0,98$ ). Die Aktivität der Alkalischen Phosphatase im Plasma spiegelte die unterschiedliche Zn-Versorgung der Ratten in ähn-

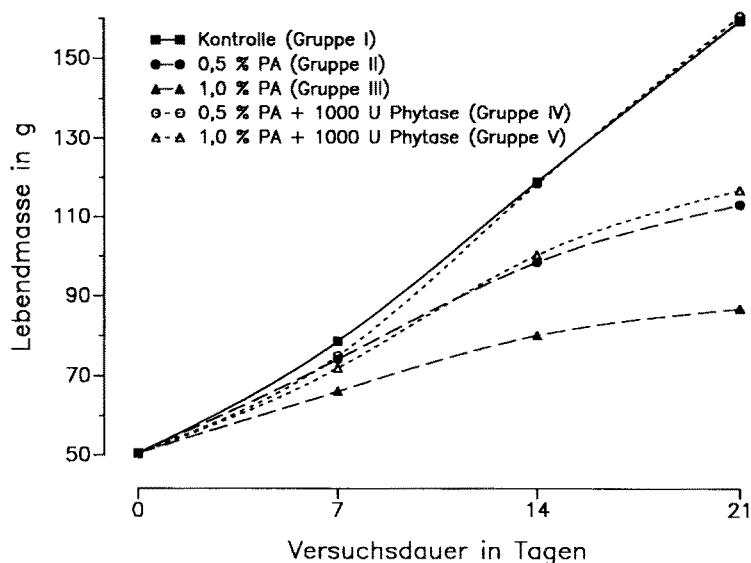


Abb. 1. Lebendmasseentwicklung wachsender Ratten bei variierenden molaren PA : Zn-Quotienten sowie Zulagen an mikrobieller Phytase

Tab. 3. Zink-Konzentration, freie Zinkbindungskapazität und Aktivität der Alkalischen Phosphatase des Plasmas bei variierenden molaren PA : Zn-Quotienten sowie Zulagen an mikrobieller Phytase

Gruppe	Zn (mg/kg)	PA (%)	Phytase (U/kg)	Plasma-Zn ( $\mu$ g/mL)	fr. ZBK (%)	AP (mU/mL)
I	20	-	-	M	1,35 <sup>a</sup>	62,1 <sup>a</sup>
				SD	0,36	9,7
II	20	0,5	-	M	0,49 <sup>b</sup>	84,4 <sup>bc</sup>
				SD	0,11	3,0
III	20	1,0	-	M	0,37 <sup>b</sup>	88,4 <sup>c</sup>
				SD	0,13	2,5
IV	20	0,5	1000	M	1,11 <sup>a</sup>	70,1 <sup>a</sup>
				SD	0,39	8,3
V	20	1,0	1000	M	0,54 <sup>b</sup>	80,3 <sup>b</sup>
				SD	0,05	4,6
						101

licher Weise wider (Tab. 3). Durch die Phytasesupplementierung wurde der Zn-Status insbesondere in Gruppe IV (0,5 % PA + 1000 U) erheblich verbessert. Bezuglich aller drei Plasma-Parameter bestanden zwischen Gruppe IV (0,5 % PA + 1000 U) und der Kontrolle (Gruppe I) keine statistisch gesicherten Differenzen. Gruppe V mit einem molaren PA : Zn-Quotienten von 50 : 1 und einer Zulage von 1000 U Phytase/kg Diät stimmte hinsichtlich der Plasma-Zn-Konzentration und

der Aktivität der Alkalischen Phosphatase gut mit Gruppe II überein, bei der lediglich ein PA : Zn-Quotient von 25 : 1 eingestellt wurde. Gemessen an der freien Zn-Bindungskapazität war Gruppe V der Gruppe II überlegen.

Ein Einfluß des molaren PA : Zn-Quotienten auf die Leber-Zn-Konzentration war in der vorliegenden Untersuchung nicht nachweisbar (Tab. 4). Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit anderen Untersuchungen (10, 26) und weisen darauf hin, daß die Leber-Zn-Konzentration einen weniger sensitiven Parameter zur Beurteilung des Zn-Status darstellt. Im Gegensatz dazu reagierte die Femur-Zn-Konzentration deutlich auf die jeweilige Behandlungsform (Tab. 4). Im Vergleich zur Kontrolle wiesen die Gruppen II, III und V um den Faktor 3 niedrigere Knochen-Zn-Konzentrationen auf. Diese Ergebnisse werden dahingehend interpretiert, daß zur Aufrechterhaltung der Zn-Homöostase bei verringriger alimentärer Bioverfügbarkeit relativ große Mengen an Zink aus dem Femur mobilisiert werden, um den Zn-Bedarf peripherer Gewebe zu decken (12).

Tab. 4. Femur-, Testes- und Leber-Zn-Konzentration bei variierenden molaren PA : Zn-Quotienten sowie Zulagen an mikrobieller Phytase

Gruppe	Zn (mg/kg)	PA (%)	Phytase (U/kg)		Femur-Zn (µg/g TM)	Testes-Zn (µg/g TM)	Leber-Zn (µg/g TM)
I	20	-	-	M	176,0 <sup>a</sup>	130,4 <sup>a</sup>	105,4 <sup>a</sup>
				SD	22,0	8,5	10,6
II	20	0,5	-	M	61,6 <sup>c</sup>	117,9 <sup>ab</sup>	104,2 <sup>a</sup>
				SD	8,0	6,4	9,4
III	20	1,0	-	M	60,2 <sup>c</sup>	114,7 <sup>bc</sup>	101,2 <sup>a</sup>
				SD	7,1	9,6	7,2
IV	20	0,5	1000	M	117,0 <sup>b</sup>	129,5 <sup>a</sup>	105,5 <sup>a</sup>
				SD	13,6	7,1	12,7
V	20	1,0	1000	M	66,1 <sup>c</sup>	117,6 <sup>ab</sup>	104,8 <sup>a</sup>
				SD	7,7	7,0	6,1

Die Zn-Konzentration in den Testes (Tab. 4) war in Gruppe III (1,0 % PA) signifikant ( $P < 0,05$ ) und in den Gruppen II (0,5 % PA) und V (1,0 % PA + 1000 U) tendenziell ( $P < 0,1$ ) gegenüber Kontrolle und Gruppe IV (0,5 % PA + 1000 U) reduziert. Die Gruppenunterschiede waren jedoch im Vergleich zur Femur- und Plasma-Zn-Konzentration schwächer ausgeprägt.

Von besonderem Interesse waren die Absorptionsdaten des Zinks. Durch die Zulage von 0,5 % (Gruppe II) bzw. 1,0 % PA (Gruppe III) wurde die scheinbare Absorption des Zinks statistisch gesichert auf 29 % bzw. 23 % gegenüber 52 % in der Kontrolle reduziert, während die scheinbare Zn-Absorption in den entsprechenden Phytazulagegruppen 41 % (Gruppe IV) sowie 28 % (Gruppe V) betrug (Tab. 5). Da der Anteil der fäkalen Zn-Exkretion an der Gesamt-Zn-Exkretion im Bereich von 96 % lag, ergab sich hinsichtlich der Zn-Retention eine vergleichbare Abstufung. Auch Lönnerdal und Mitarbeiter (16) fanden bei Ratten einen stark hemmenden Effekt der PA auf die Zn-Absorption. In Übereinstimmung mit anderen Arbeiten, die sich auf Ferkel beziehen (14, 25), konnte auch in

Tab. 5. Scheinbare Absorption und Retention (jeweils in % der Aufnahme) sowie prozentuale fäkale Exkretion des Zinks bei variierenden molaren PA : Zn-Quotienten sowie Zulagen an mikrobieller Phytase

Gruppe	Zn (mg/kg)	PA (%)	Phytase (U/kg)	scheinbare Absorption (% der Aufnahme)	Retention (% der Aufnahme)	Prozentualer An- teil der fäkalen Exkretion an der Gesamtexkretion
I	20	-	-	M	52,2 <sup>a</sup>	50,4 <sup>a</sup>
				SD	10,7	11,1
II	20	0,5	-	M	28,5 <sup>b</sup>	25,7 <sup>b</sup>
				SD	7,3	8,1
III	20	1,0	-	M	23,3 <sup>bc</sup>	19,0 <sup>bc</sup>
				SD	7,6	7,9
IV	20	0,5	1000	M	40,9 <sup>ab</sup>	38,3 <sup>ab</sup>
				SD	3,8	4,9
V	20	1,0	1000	M	28,2 <sup>b</sup>	24,9 <sup>b</sup>
				SD	5,2	5,4

der vorliegenden Untersuchung ein positiver Effekt einer Zulage an mikrobieller Phytase auf die Zn-Absorption festgestellt werden. Um das Ausmaß der gastrointestinalen PA-Hydrolyse abzuschätzen, erfolgte eine PA-Analyse des Caecumchymus. Aufgrund des limitierten Probenmaterials wurde der Caecuminhalt von jeweils einer Gruppe gepoolt. Während in der Kontrollgruppe keine PA nachweisbar war, wurde in den Gruppen II (0,5 % PA) und III (1,0 % PA) eine PA-Konzentration von 52 bzw. 117 mg/g TM gemessen. Die PA-Konzentration der Gruppe IV (0,5 % PA + 1 000 U) lag mit 23 mg/g TM deutlich unter der der Gruppe II (0,5 % PA). In der Gruppe V (1,0 % PA + 1 000 U) wurde ein PA-Gehalt von 81 mg/g TM analysiert. Diese Ergebnisse stützen die Resultate der Zinkbilanz und weisen darauf hin, daß ein erheblicher Anteil des Natriumphytats durch die Zulage von 1 000 U Phytase/kg Diät praecaecal hydrolysiert worden sein dürfte. Vermutlich ist auch bei der Ratte, ähnlich wie beim Ferkel (14, 25), ein zusätzlicher Effekt auf die Verwertung weiterer durch PA komplexierter Mineralstoffe (v.a. Ca, Mg und Fe) zu erwarten.

Insgesamt zeigen die vorliegenden Ergebnisse, daß der Zusatz von 1 000 U mikrobieller Phytase je kg Diät die antinutritive Wirkung von Phytat bezüglich der Bioverfügbarkeit von Zink erheblich reduzieren kann.

#### Literatur

1. Chan SD, Atkins D (1983) Distribution and properties of  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase, phytase and alkaline phosphatase in isolated enterocytes from normal and vitamin D-deficient rats. Gut 24(10):886-892
2. Cheryan M (1980) Phytic acid interaction in food systems. Crit Rev Food Sci Nutr 13(4):297-335
3. Copper JR, Gowing HS (1983) Mammalian small intestinal phytase (E.C. 3.1.3.8). Br J Nutr 50:673-678
4. Davies NT, Olpin SE (1979) Studies on the phytate : zinc molar contents in diets as a determinant of Zn availability to young rats. Br J Nutr 41:590-603

5. Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (1972) Standard-Methode zur Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatase (AP). *Z klin Chem u klin Biochem* 10:191
6. Franz KB, Kenndey BM, Fellers DA (1980) Relative bioavailability of zinc from selected cereals and legumes using rat growth. *J Nutr* 110:2272–2283
7. Fretzendorff B, Weipert D (1986) Phytinsäure in Getreide und Getreideerzeugnissen. Mitteilung I: Phytinsäure und Phytase in Roggen und Roggenprodukten. *Z Lebensm Unters Forsch* 182:287–293
8. Gad SS, Mohamed MS, Esmat El-Zalaki M, Zeinab Mohasseb S (1982) Effect of processing on phosphorus and phytic acid contents of some Egyptian varieties of legumes. *Food Chem* 8:11–19
9. Greiner R, Jany K-D (1991) Untersuchungen zum Phytinsäureabbau durch intestinale Mikroorganismen. *Ernährungsumschau* 38:102
10. Hallmans G, Sjöström R, Wetter L, Wing KR (1989) The availability of zinc in endosperm, whole grain and branriched wheat crispbread fed to rats on Zn-deficient diet. *Br J Nutr* 62:165–175
11. Harmuth-Hoene AE, Meuser F (1987) Biologische Verfügbarkeit von Zink in Getreidevollkornprodukten mit unterschiedlichem Phytatgehalt. *Z Ernährungswiss* 26:250–267
12. Harmuth-Hoene AE, Meuser F (1988) Verbesserung der biologischen Verfügbarkeit von Zink in Schrot- und Knäckebrot. *Z Ernährungswiss* 27:244–251
13. Kincaid RL, Cronrath JD (1979) Effects of dietary zinc upon tissue zinc and percent unsaturated plasma-zinc binding capacity. *J Dairy Sci* 62:572–576
14. Lantsch HJ, Wjst S (1992) Wirkung mikrobieller Phytasezusätze (*Aspergillus niger*) auf den Phosphor-, Kalzium-, Magnesium- und Zinkstoffwechsel junger Schweine unter dem Einfluß steigender Kalziumgehalte im Futter. 46. Tagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE), Göttingen, Kurzfassungen, S 107–108
15. Lo GS, Settle SL, Steinke FH, Hopkins DT (1981) Effect of phytate : zinc molar ratio and isolate soybean protein on zinc bioavailability. *J Nutr* 111:2223–2235
16. Lönnadal B, Bell JG, Hendrickx AG, Burns RA, Keen CL (1988) Effect of phytate removal on zinc absorption from soy formula. *Am J Clin Nutr* 48(5):1301–1306
17. Miyazawa E, Yoshida T (1991) Effects of dietary levels of phytate and inorganic phosphate on phytate breakdown and absorption of calcium and magnesium in rats. *Nutr Rep Int* 11:797–806
18. Moore RJ, Veum TL (1983) Adaptive increase in phytate digestibility by phosphorus deprived rats and the relationship of intestinal phytase (E.C. 3.1.3.8) and alkaline phosphatase (E.C. 3.1.3.1) to phytate utilization. *Br J Nutr* 49(1):145–152
19. Morris ER, Ellis R (1980) Effect of dietary phytate/zinc molar ratio on growth and bone zinc response of rats fed semipurified diets. *J Nutr* 110:1037–1045
20. Näsi M (1990) Microbial phytase supplementation for improving availability of plant phosphorus in the diet of growing pigs. *J Agricultural Sci Finland* 62(5):435–443
21. Neusser H, Pallauf J (1988) Bestimmung von Phytinsäure in Futtermitteln und Faeces mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie. *J Anim Physiol a Anim Nutr* 60:20
22. Oberleas D, Muhrer ME, O'Dell BL (1966) Dietary metal-complexing agents and zinc availability in the rat. *J Nutr* 90:56–61
23. Omosaiye O, Cheryan M (1979) Low-phytate, full-fat soyprotein product by ultrafiltration of aqueous extracts of whole soybeans. *Cereal Chem* 56:58–62
24. Pallauf J, Höhler D, Rimbach G, Neusser H (1992) Einfluß einer Zulage an mikrobieller Phytase zu einer Mais-Soja-Diät auf die scheinbare Absorption von Phosphor und Calcium beim Ferkel. *J Anim Physiol a Anim Nutr* 67:30–40
25. Pallauf J, Höhler D, Rimbach G (1992) Effekt einer Zulage an mikrobieller Phytase zu einer Mais-Soja-Diät auf die scheinbare Absorption von Mg, Fe, Cu, Mn und Zn sowie auf Parameter des Zinkstatus beim Ferkel. *J Anim Physiol a Anim Nutr* 68:1–9
26. Pallauf J, Krämer K, Markwitan A, Ebel D (1990) Effekt einer Zulage an Citronensäure auf die Bioverfügbarkeit von Zink aus Maiskeimen. *Z Ernährungswiss* 29:27–38
27. Roth HP, Kirchgessner M (1985) Utilization of zinc from picolinic or citric acid complexes in relation to dietary protein source in rats. *J Nutr* 115:1641–1649
28. Roth HP, Kirchgessner M (1980) Zn-Bindungskapazität des Serums. Ein Parameter zur Diagnose von marginalem Zn-Mangel. *Res Exp Med* 177:213–219

29. Sandström B, Cederblad A (1987) Effect of ascorbic acid on the absorption of zinc and calcium in man. *Int J Vit Nutr Res* 57:87–90
30. Scheuermann SE, Lantzsch HJ (1982) Zum Einfluß verschiedener Faktoren auf die Aktivität der alkalischen Phosphatase bei landwirtschaftlichen Nutztieren und Labortieren. *Übers Tiererg* 10:51–74
31. Simons PCM, Versteegh HAJ, Jongbloed AW, Kemme PA, Slump P, Bos KD, Verschoor GJ (1990) Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. *Br J Nutr* 64:525–540
32. Smith AK, Rackis JJ (1957) Phytin elimination in soybean protein isolation. *J Am Chem Soc* 79:633–637
33. Ullah ABJ, Gibson DM (1987) Extracellular phytase (E.C. 3.1.3.8) from *Aspergillus ficuum* NRRL 3135: Purification and characterization. *Prep Biochem* 17(1):63–91
34. Yang WJ, Matsuda Y, Sano S, Masutani H, Nakagawa H (1991) Purification and characterization of phytase from rat intestinal mucosa. *Biochim Biophys Acta* 1075(1):75–82

Eingegangen 15. Juli 1992  
akzeptiert 1. Oktober 1992

Für die Verfasser:

Prof. Dr. J. Pallauf, Institut für Tierernährung, Justus-Liebig-Universität Gießen, Senckenbergstraße 5, W-6300 Gießen