

## **Ефект от добавката на фитаза върху транспорта на аминокиселините и глюкозата в изолирани ентероцити от тънкото черво на пилета бройлери, хранени с царевично-соева и царевично-пшеничено-соева смески**

**\*Димитър Чотински, Янко Профиров, Ема Тончева, Атанаска Дончева, Емилия Станчева, Христо Станчев**

*Институт по животновъдни науки – Костинброд*

\*E-mail: chotinsky@mail.bg

### **Резюме**

Проведени са два опита, за да се установи ефектът на фитатите и добавката на фитаза в царевично-соева и царевично-пшеничено-соева смески върху транспорта на L-метионина, L-триптофана, <sup>14</sup>C-глицина и D-глюкозата в изолирани ентероцити от тънкото черво.

Първият опит беше проведен с царевично-соева смеска с нормално и с ниско съдържание на нефитинов фосфор и добавка на (0, 250 и 700 PU / kg) фитаза.

Вторият опит беше проведен с царевично-пшеничено-соева смеска с нормално и с ниско съдържание на нефитинов фосфор и добавка на (0 и 250 PU / kg фитаза).

Акумулирането на глюкозата в ентероцитите намалява, а на метионина и триптофана се повишава незначително при изхранването със смески с намалено съдържание на нефитинов фосфор и добавка на 250 PU / kg фитаза. При увеличаване на дозата на фитазата на 700 PU / kg транспортът на метионина и триптофана намалява, а на глюкозата се повишава незначително и се изравнява с транспорта на контролната група.

Транспортът на метионина, триптофана и глюкозата незначително се повишава при изхранването с царевично-пшеничено-соева смеска и добавка на 250 PU kg / фитаза.

Транспортът на <sup>14</sup>C-глицин в ентероцитите не се изменя значително и при двата опита.

**Ключови думи:** ентероцити, транспорт, аминокиселини, глюкоза, фитаза, пилета бройлери

## **Effect of Supplementation of Microbial Phytase on the Transport of Amino Acids and Glucose in isolated Enterocytes from the Small Intestine of Broiler Chickens Fed Corn-Soybean and Corn-Wheat-Soybean Meals**

**Dimiter Chotinsky, Yanko Profirov, Ema Toncheva, Atanaska Doncheva, Emilia Stancheva, & Christo Stanchev**

*Institute of Animal Science – Kostinbrod*

\*E-mail: chotinsky@mail.bg

**Citation:** Chotinsky, D., Profirov, Y., Toncheva, E., Doncheva, A., Stancheva, E., & Stanchev, C. (2019). Effect of Supplementation of Microbial Phytase on the Transport of Amino Acids and Glucose in isolated Enterocytes from the Small Intestine of Broiler Chickens Fed Corn-Soybean and Corn-Wheat-Soybean Meals. *Zhivotnovadni Nauki*, 56(4), 59-67 (Bg).

### Abstract

Two experiments were conducted to evaluate the effects of phytates and supplementation of phytase in corn-soybean meal and corn-wheat-soybean meal on transport of L-methionine, L-tryptophane, <sup>14</sup>C-glycine and D-glucose in isolated enterocytes from the small intestine.

In experiment one involved a normal P level in corn-soybean meal and a low P diets plus phytase (0, 250, 700 PU / kg) diet.

A second experiment was conducted with a normal P level in corn-wheat-soybean meal and a low P diet plus phytase (0, 250 PU / kg) diet.

The accumulation of glucose in the isolated enterocytes decreased and of methionine and tryptophane increased not significantly when broiler chickens consume a meal with a low P diet plus 250 PU / kg phytase.

The transport of methionine and tryptophane decreased when the level of phytase increased to 700 PU / kg diet and of glucose increased not significantly to the transport of glucose of the control group.

The transport of methionine, tryptophane and glucose increased not significantly when broiler chickens eat a corn-wheat-soybean meal plus 250 PU / kg diet.

The transport of <sup>14</sup>C glycine in the isolated enterocytes not change significantly in two experiments.

**Key words:** enterocytes, transport, amino acids, glucose, phytase, broiler chickens

Смилането на хранителните вещества в организма на птиците се извършва под действието на панкреатичните и brush border ензими. Крайните продукти при смилането на белтъчините и въглехидратите са главно аминокиселините и глюкозата, които се резорбират в организма чрез ентероцитите, покриващи горната третина на чревните villi в тънкото черво (Levin et al., 1974; Guedon et al., 1986).

Поемането на храната и присъствието на хранителни вещества в чревния тракт играе важна роля в поддържане на нормалната структура на чревния тракт и функцията на ензимите, локализирани на повърхността на ентероцитите. Има данни, че храненето регулира активността на дизахаридазите (Goda, 2000) и чревните преносители (Cui et al., 2003; Pan et al., 2004).

Наличието на антихранителни вещества във фуражните компоненти може да предизвика морфологични промени в brush border мембраната и активността на ензимите в нея (Welsch et al., 1989 b). Към антихранителните вещества във фуражните компоненти се от-

насят фенолите, трипсиновите инхибитори и фитатите (фитиновата киселина).

Една такава група нехранителни вещества са фенолите, които са широко разпространени в храните от растителен произход (Maga, 1978). Към тази група се отнасят и танините, които се съдържат в някои житни зърнени като сорго.

Установено е при плъхове, че към действието на танините са чувствителни панкреатичната амилаза, трипсина и липазата in vitro и in vivo (Moseley and Griffiths, 1980). Под действието на танините и някои дажбени фенолни мономери се инхибира и активността на захаразата в brush border мембранни везикули, изолирани от тънкото черво на плъхове (Welsch et al., 1989 a, b). Освен това фенолните съставки инхибират и поемането на глюкозата in vitro в brush border мембранните везикули в резултат на нарушаване на Наелектрохимичен градиент, който е движеща сила за акумулирането на глюкозата.

Фитиновата киселина се смята като силно антихранително вещество, понеже засяга

смилането на хранителните вещества (Selle and Ravindran, 2007; Cowieson and Ravindran, 2007; Cowieson et al., 2009). Известно е, че фитиновата киселина има висок афинитет към ди- и тривалентните катиони, особено Zn, Mn, Cu, Mg, Ca и Fe (Phillipy, 2003). Свързването на тези елементи във фитатите намалява тяхната резорбция в храносмилателния апарат у плъхове (Lonnerdal et al., 1989; Kunz and Lonnerdal, 1990; Szkudelski, 1995).

Фитиновата киселина, освен че намалява усвояването на фосфора и другите минерални вещества, може да намали и усвояването на протеина и въглехидратите чрез намаляване на активността на смилателните ензими (Singh and Kirkorian, 1982; Knuckles and Betschart, 1987; Despande and Cherian, 1986; Nair et al., 1991; Dilworth et al., 2004). Тя изменя и активността на чревната  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТPазе (Dilworth et al., 2005).

Добавката на фитаза може не само да превърне фитатния фосфор до усвоим нефитинов фосфор, но също фитатно свързания протеин до усвоим протеин (Yonemocin et al., 2000). Според Cowieson et al. (2009) фитазата подобрява смиланемостта на минералните вещества и аминокиселините, като това е свързано с увеличената резорбция на екзогенните и ендогенните аминокиселини.

В достъпната литература не намерихме данни за ефекта на фитатите върху транспорта на аминокиселините и глюкозата при птиците.

Целта на настоящото изследване е да се установи ефектът на фитатите и добавката на фитаза върху *in vitro* транспорта на L-метионина, L-триптофана,  $^{14}\text{C}$ -глицина и D-глюкозата в изолирани ентероцити от тънкото черво на мъжки пилета бройлери.

## Материал и методи

### Животни

Опитите бяха проведени с мъжки пилета бройлери, четирилинеен хибрид. Пилетата се отглеждаха според приетата технология в института в клетъчни батерии и се хранеха

със стартерна и гроуерна смески. В първия опит пилетата в контролната група от излюпването до 21-ия ден получаваха стартерна смеска с 22,43% суров протеин и 2895 kcal / kg ОЕ, а опитните групи – смеска с 22,45% суров протеин и 2905 kcal / kg ОЕ. През гроуерния период смеските съдържаха 19,03% и 19,03% суров протеин и 3079 и 3087 kcal / kg ОЕ.

При използването на царевично-соева смеска съдържанието на фосфора през стартерния период е 0,42% и 0,29%, съответно в контролната и опитните групи. През гроуерния период нивото на нефитиновия фосфор е 0,29% в контролната група и 0,17% в опитните групи и четири нива на фитаза (0, 125, 250, 500, 700 PU / kg).

В царевично-пшеничено-соевата смеска съдържанието на фосфора в контролната група през стартерния период е 0,43%, а в опитните групи – 0,24%. През гроуерния период нивото на фосфора е 0,32% в контролната група и 0,18% в опитните групи при две нива на фитаза – 0, 250, 500 PU / kg.

Всички смески бяха предоставени за консумация *ad libitum* в насипна форма. Пилетата имаха свободен достъп до вода.

След завършване на двата научно-стопански опита бяха взети по 5 пилета със средно тегло от I, III, V, VI и VII групи.

### Отстраняване на тъканите

Пилетата бяха убити чрез декапитиране след 18-часово гладуване и проксималната част на тънкото черво (йеюнума) беше изрязана и нарязана на сегменти. Преди това йеюнума беше внимателно почистен от мазнината и мезентериалната тъкан и промит със студена ( $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) буфер.

### Изолиране на ентероцитите и транспорт на аминокиселините и глюкозата

Клетките бяха изолирани чрез инкубация на чревните сегменти от тънкото черво с буфер, съдържащ хиалуронидаза (Kimmich, 1970). Инкубационната среда съдържаеше 120 mM NaCl, 3 mM  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 1 mM  $\text{MgCl}_2$ , 1 mM  $\text{CaCl}_2$ , 20 mM Tris Cl (pH 7,4) и говежди серу-

мен албумин 1 mg / ml. Изолираните клетки бяха суспендирани в Tris buffer (pH 7,4), съдържащ 10 mM глюкоза, 10 mM метионин, 2 mM триптофан, 5  $\mu$ Ci  $^{14}$ C-глицин.

Клетките бяха инкубирани във водна баня за 30 min за нативните и 60 min за  $^{14}$ C-глицин с 80–100 осцилации на минута при температура 37°C.

Глюкозата беше определена според метода на Ceriotti (1963), метионина според McCarthy and Sullivan (1941) и триптофана според Orienska-Blauth et al. (1963). Поемането на глюкозата, метионина и триптофана бяха изразени в mmol / g сухи клетки / 30 min, докато  $^{14}$ C-глицин в imp. / min / 100 mg сухи клетки

#### Статистика

Получените резултати бяха обработени вариационно-статистически по метода на Стюдънт.

### Резултати и обсъждане

Транспортът на L-метионина, L-триптофана,  $^{14}$ C-глицина и D-глюкозата в изолирани ентероцити от тънкото черво при пилета бройлери, хранени със смеси с намалено съдържание на нефитинов фосфор е даден в табл. 1 и фиг. 1. Вижда се, че акумулирането на глюкозата в ентероцитите се понижава

при използването само на фитинов фосфор и добавката на 250 PU / kg фитаза в царевично-соева смеска. С увеличаване на дозата на фитазата на 700 PU / kg, акумулирането на глюкозата се повишава и достига това на контролната група. В същото време при добавката на 250 PU / kg фитаза в царевично-пшеничено-соева смеска акумулирането на глюкозата в ентероцитите почти не се изменя, в сравнение с контролната група.

Транспортът на L-метионина и L-триптофана в ентероцитите се повишава при изхранването със смеси с намалено съдържание на нефитинов фосфор и добавка на 250 PU / kg фитаза в царевично-соева смеска. Транспортът и на двете аминокиселини обаче намалява при увеличаване дозата на фитазата до 700 PU / kg в царевично-соевата смеска. Транспортът на метионина и триптофана в ентероцитите се повишава при включването на 250 PU / kg фитаза в царевично-пшеничено-соева смеска.

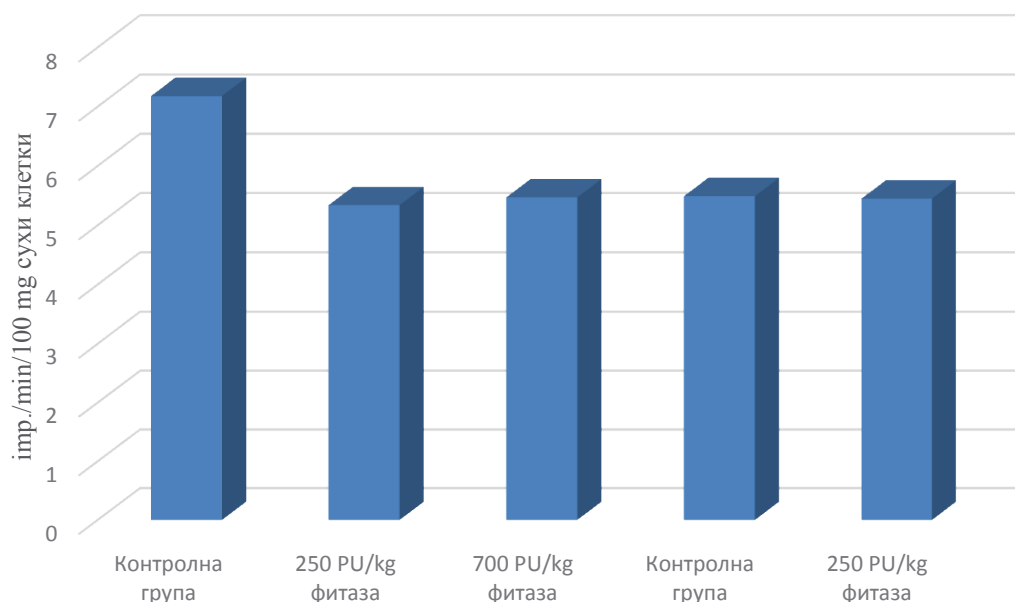
Транспортът на  $^{14}$ C-глицин в ентероцитите незначително се понижава при изхранването със смеси с намалено съдържание на нефитинов фосфор и добавката на 250 PU / kg фитаза (фиг. 1). Транспортът на  $^{14}$ C-глицин в ентероцитите почти не се изменя при изхранването и добавката на 250 PU / kg фитаза в царевично-пшеничено-соева смеска.

Получените резултати показват, че транспортът на метионина, триптофана,  $^{14}$ C-глици-

**Таблица 1.** Транспорт на D-глюкоза, L-метионин и L-триптофан в изолирани ентероцити от тънкото черво на пилета бройлери

**Table 1.** Transport of D-glucose, L-methionine and L-tryptophan in isolated enterocytes from the small intestine of broiler chickens

Групи	L-метионин / L-methionine	L-триптофан / L-tryptophan	D-глюкоза / D-glucose
Контролна група (царевично-соева смеска)	41,46 ± 6,36	12,31 ± 1,86	16,10 ± 1,52
250 PU / kg. фитаза	50,12 ± 7,36	18,12 ± 3,37	13,20 ± 3,97
700 PU / kg. фитаза	30,42 ± 2,93	8,95 ± 0,83	16,20 ± 2,04
Контролна група (царевично- пшеничено-соева смеска)	32,07 ± 6,07	9,55 ± 1,07	17,80 ± 1,99
250 PU / kg. фитаза	42,15 ± 7,47	16,94 ± 3,74	18,20 ± 1,75



**Фиг. 1.** Транспорт на  $^{14}\text{C}$ -глицин в изолирани ентероцити от тънкото черво в пилета бройлери  
**Fig. 1.** Transport of  $^{14}\text{C}$ -glycine in isolated enterocytes from the small intestine of broiler chickens

на и глюкозата в ентероцитите не се изменя значително при храненето на пилетата бройлери със смеси с ниско ниво на нефитинов фосфор поради голямото индивидуално вариране в групите. По-голямо индивидуално вариране е наблюдавано и в резорбцията на минералните вещества и при други видове животни, хранени с диети с повишено съдържание на *myo*-inositol hexaphosphate (фитинова киселина) (Hill et al., 2001; Denstadli et al., 2005; Szymeczko et al., 2005). Високо индивидуално вариране е било намерено и когато радиобелязано Fe е било използвано за определяне поемането на желязото при норки (Skrede, 1970).

В проведени по-рано изследвания е установено, че фитатите намаляват не само усвояването на минералните вещества (Maga, 1982; Reddy et al., 1982; Viveros et al., 2002), но и на протеините и въглехидратите (Selle and Ravindran, 2007; Cowieson and Ravindran, 2009).

Според Richardson et al. (1985), няколко фактора са отговорни за намаленото използване на протеините и въглехидратите в дажби с високо съдържание на фитати. Това е свързано с образуването на протеин-фитатни

комплекси, инхибиране секрецията на смилателните ензими и потискане резорбцията на хранителните вещества в тънкото черво.

Проведени по-рано изследвания показват, че фитиновата киселина намалява усвояването на протеините, въглехидратите и липидите чрез нейната способност да намалява смилателните ензими *in vitro* (Singh and Krikorian, 1982; Despande and Cherian, 1984; Knuckles and Betschart, 1987) и *in vivo* (Dilworth et al., 2004; Liu et al., 2008; Ravindran et al., 2008). Фитатите намаляват активността на ензимите в храносмилателния апарат чрез образуване на хелати с кофакторите, които са необходими за нормалната активност на ензимите. Освен това те могат да се свързват с продуктите от смилането на протеините и да образуват фитат-протеинови комплекси при рН по-ниско от изоелектричната точка на протеините (Katayama, 1997). Намалението в активността на ензимите от фитатите може да завърши с преминаването на повече хранителни вещества през храносмилателния тракт неразградени и нерезорбирани.

Ефектът на антихранителните вещества върху транспорта на хранителните вещества

е докладван от Welsch et al. (1989 a). Те са изследвали ефекта на няколко антихранителни вещества (фенолни съставки) върху Na-зависимия D-глюкозен транспорт *in vitro* в brush border мембранни везикули, изолирани от тънкото черво на плъхове. Те установяват, че танините и chlorogenic acid намаляват поемането на глюкозата най-силно, в сравнение с останалите използвани фенолни съставки. Това е резултат от нарушаването на Na-електрохимичен градиент, който представлява движеща сила за активното акумулиране на глюкозата. Инфузията на полифеноли директно в червото също така значително намалява резорбцията на глюкозата (Matilva et al., 1983). Palauf and Rimbach (1997) смятат, че наличието на фитинова киселина в диетата забавя резорбцията на глюкозата в следобедните часове. Обратно, намалението на концентрацията на фитиновата киселина в диетата увеличава резорбцията на въглехидратите и нивото на кръвната захар в кръвта (Thompson et al., 1987).

Gagne et al. (2002) смятат, че по-бързото увеличение на  $\alpha$ -амино N при по-младите прасета показва, че добавката на фитаза подобрява резорбцията на плазмения  $\alpha$ -амино азот при растящи прасета. Авторите смятат, че по-бързото увеличение на плазмения  $\alpha$ -амино N в по-младите прасета при добавката на фитаза е свързано с увеличаване на усвояването на някои аминокиселини. Липсата на ефект в резорбцията на  $\alpha$ -амино N при по-старите прасета е свързано с по-високата ендогенна ензимна активност, което компенсира възможния ефект на фитазата върху смилаността на N.

Kennefick and Cashman (2000) установяват, че фитатът който е свързан с влакнините в много фуражи, инхибира  $^{45}\text{Ca}$  транспорт в Caco-2 клетки. Авторите отбелязват също така, че дефитинизираните пшенични влакнини сами по себе си имат малък инхибиторен ефект върху Ca резорбция.

Фитатите, които са свързани с влакнините в много фуражи, такива като житни и соеви продукти, инхибират Ca резорбция също така при човека (Heaney et al., 1991) и плъ-

хове (Lonnerdal et al., 1989). Lonnerdal et al. (1989) отбелязват, че инхибиторният ефект на inositol phosphates върху Ca резорбция при бозаещи плъхове е бил ограничен до penta и hexaphosphates и че tri- и tetra- фосфатите нямат ефект.

В други изследвания, проведени с прасета, е установено, че източникът на дажбените влакнини играе значителна роля в смилането и резорбцията на хранителните вещества (Wenk and Zurcher, 1990; Hooda et al., 2010). Активността на brush border ензимите и активността на панкреатичните ензими е била също повлияна от източника на влакнините (Chen et al., 2015). Освен това под действието на влакнините в граха настъпват промени в резорбцията на глюкозата и на малките пептиди чрез регулиране нивото на глюкозните преносители (SGLT1 и SGLUT2) и преносителя за малките пептиди (PepT1), като се сравнят с ефекта на царевичните влакнини.

При добавката на фитаза в дажбата се освобождават фосфатни аниони, които увеличават секрецията на Na в храносмилателния апарат (Cowieson et al., 2004; Ravindran et al., 2008). Cowieson et al. (2004) смятат, че това движение на Na в червото служи за буферизиране на полианионната фитатна молекула. Влиянието на фитатите върху движението на Na в червото може да засегне Na-зависимите транспортни системи и по този начин да се отрази върху поемането на хранителните вещества (Selle and Ravindran, 2007; Ravindran et al., 2008). Известно е, че Na-зависимите ко-транспортни механизми са включени в поемането в тънкото черво на глюкозата и аминокиселините при пилета бройлери (Sklan and Noy, 2000; Gal-Garber et al., 2003).

Освен това при храненето на пилетата със смески с ниско съдържание на Na активността на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ATPase е силно намалена (Sklan and Noy, 2000). Авторите смятат, че това се дължи на липсата на Na, необходим за активността на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ATPase. Доставка на достатъчно Na е от съществено значение за поемането на хранителните вещества. Това е дало основание на авторите активността на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ATPase да се използва като пара-

метър за измерване на чревната резорбция. Други автори смятат, че този ензим може да се използва за оценка на поемането на хранителните вещества в тънкото черво (Croom et al., 1999).

Включването на фитинова киселина в дажбата на плъхове значително намалява активността на Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> АТРаза в тънкото черво (Dilworth et al., 2005). При пилета бройлери активността на Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> АТРаза се инхибира също така при изхранването със смеси с високо съдържание на фитати (Liu et al., 2008). При включването на фитаза в смеските е настъпило подобрение в активността на този и останалите изследвани ендогенни ензими и по този начин фитазата може да играе компенсаторна роля в луминалното и мембранно смилане на хранителните вещества.

### Заклучение

При храненето на пилетата бройлери със смеси с ниско съдържание на нефитинов фосфор настъпват известни промени в транспорта на глюкозата и аминокиселините. Добавката на фитаза в смеските не влияе еднопосочно върху транспорта на аминокиселините и глюкозата в ентероцитите

### Изводи

Акумулирането на глюкозата в ентероцитите намалява, а на метионина и триптофана се повишава незначително при изхранването със смеси с намалено съдържание на нефитинов фосфор и добавка на 250 PU / kg фитаза.

Транспортът на метионина и триптофана намалява, а на глюкозата се изравнява с транспорта на контролната група при увеличаване на дозата до 700 PU / kg фитаза.

Транспортът на метионина, триптофана и глюкозата незначително се повишава при изхранването с царевично-пшеничено-соева смеска и добавката на 250 PU / kg фитаза.

При условията на опита транспортът на <sup>14</sup>C-глицин в ентероцитите не се изменя значително.

### Литература

- Caldwell, R. A.** (1992). Effect of calcium and phytic acid on the activation of trypsinogen and the stability of trypsin, *J Agr. Food Chem.*(40), 43-48.
- Ceriotti, G.** (1963). Micro determination of glucose, *Clin.Chim.Acta*, (8), 157-158.
- Chen, H., Mao, X., Yin, J., Yu, B., He, J., Che, L., Yu, J. Huang, Z., Zheng, P., Michiels, J., Chen, D., & De Smet, S.** (2015). Comparison of jejunal digestive enzyme activities, expression of nutrient transporter genes, and apparent fecal digestibility in weaned piglets fed diets with varied sources of fiber. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 24(1), 41-47.
- Cowieson, A. J., Acamovic, T., & Bedford, M. R.** (2004). The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. *British poultry science*, 45(1), 101-108.
- 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*, 98(4), 745-752.
- Cowieson, A. J., Bedford, M. R., Selle, P. H., & Ravindran, V.** (2009). Phytate and microbial phytase: implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. *World's poultry science journal*, 65(3), 401-418.
- Croom, W. J., Brake, J., Coles, B. A., Havenstein, G. B., Christensen, V. L., McBride, B. W., Peebles, J. E. D. & Taylor, I. L.** (1999). Is intestinal absorption capacity rate-limiting for performance in poultry?. *Journal of Applied Poultry Research*, 8(2), 242-252.
- Cui, X. L., Jiang, L., & Ferraris, R.** (2003). Regulation of intestinal GLUT2 and RNA abundance by luminal and systemic factors, *Biochem.Biophys. Acta*, 161, 178-185.
- Denstadli, V., Romarheim, A. T., Sørensen, M., Ahlstrøm, Ø., & Skrede, A.** (2010). Effects of dietary phytic acid on digestibility of main nutrients and mineral absorption in mink (*Mustela vison*). *Journal of Animal and Feed Sciences*, 19(1), 104-112.
- Deshpande, S. S., & Cheryan, M.** (1984). Effects of phytic acid, divalent cations, and their interactions on  $\alpha$ -amylase activity. *Journal of Food Science*, 49(2), 516-519.
- Dilworth, L. L., Omoruyi, F. O., Simon, O., Morrison, E. Y., & Asemota, H. N.** (2004). Hypoglycemia and faecal minerals in rats fed phytate. *Nutrition & Food Science*, 34(2), 60-64.

- Dilworth, L. L., Omoruyi, F. O., & Asemota, H. N.** (2005). Digestive and absorptive enzymes in rats fed phytic acid extract from sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Diabetologia Croatica*, 34(2), 58-65.
- Gagne, F., Matte, J. J., Barnett, G., & Pomar, C.** (2002). The effect of microbial phytase and feed restriction on protein, fat and ash deposition in growing-finishing pigs. *Canadian journal of animal science*, 82(4), 551-558.
- Gal-Garber, O., Mabjeesh, S. J., Sklan, D., & Uni, Z.** (2003). Nutrient transport in the small intestine: Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase expression and activity in the small intestine of the chicken as influenced by dietary sodium. *Poultry Science*, 82(7), 1127-1133.
- Goda, T.** (2000). Regulation of the expression of carbohydrate digestion/absorption-related genes. *British Journal of Nutrition*, 84(S2), S245-S248.
- Griffiths, D. W., & Moseley, G.** (1980). The effect of diets containing field beans of high or low polyphenolic content on the activity of digestive enzymes in the intestines of rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 31(3), 255-259.
- Guedon, C., Schmitz, J., Lerebours, E., Metayer, J., Audran, E., Hemet, J., & Colin, R.** (1986). Decreased brush border hydrolase activities without gross morphologic changes in human intestinal mucosa after prolonged total parenteral nutrition of adults. *Gastroenterology*, 90(2), 373-378.
- Heaney, R. P., Weaver, C. M., & Fitzsimmons, M. L.** (1991). Soybean phytate content: effect on calcium absorption. *The American journal of clinical nutrition*, 53(3), 745-747.
- Hill, R. C., Burrows, C. F., Ellison, G. W., & Bauer, J. E.** (2001). The effect of texturized vegetable protein from soy on nutrient digestibility compared to beef in cannulated dogs. *Journal of animal science*, 79(8), 2162-2171.
- Hooda, S., Metzler-Zebeli, B. U., Vasanthan, T., & Zijlstra, R. T.** (2010). Effects of viscosity and fermentability of purified non-starch polysaccharides on ileal and total tract nutrient digestibility in ileal-cannulated grower pigs. *Livestock science*, 134(1-3), 79-81.
- Katayama, T.** (1997). Effects of dietary myo-inositol or phytic acid on hepatic concentrations of lipids and hepatic activities of lipogenic enzymes in rats fed on corn starch or sucrose. *Nutrition Research*, 17(4), 721-728.
- Kennefick, S., & Cashman, K. D.** (2000). Inhibitory effect of wheat fibre extract on calcium absorption in Caco-2 cells: evidence for a role of associated phytate rather than fibre per se. *European journal of nutrition*, 39(1), 12-17.
- Kimmich, G. A.** (1970). Preparation and properties of mucosal epithelial cells isolated from small intestine of the chicken. *Biochemistry*, 9(19), 3659-3668.
- Knuckles, B. E., & Betschart, A. A.** (1987). Effect of phytate and other myo-inositol phosphate esters on  $\alpha$ -amylase digestion of starch. *Journal of Food Science*, 52(3), 719-721.
- Kunz, C., & Lonnerdal, B.** (1990). Calcium retention from human milk, infant formula and preterm formula. *FASEB J*, 4, A521.
- Levine, G. M., Deren, J. J., Steiger, E., & Zinno, R.** (1974). Role of oral intake in maintenance of gut mass and disaccharide activity. *Gastroenterology*, 67(5), 975-982.
- Lönnerdal, B. O., Sandberg, A. S., Sandström, B., & Kunz, C.** (1989). Inhibitory effects of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption in suckling rats. *The Journal of nutrition*, 119(2), 211-214.
- Liu, N., Ru, Y. J., Li, F. D., & Cowieson, A. J.** (2008). Effect of diet containing phytate and phytase on the activity and messenger ribonucleic acid expression of carbohydrase and transporter in chickens. *Journal of Animal Science*, 86(12), 3432-3439.
- Maga, J. A., & Katz, I.** (1978). Simple phenol and phenolic compounds in food flavor. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 10(4), 323-372.
- McCarthy, T. E., & Sullivan, M. X.** (1941). A new and highly specific colorimetric test for methionine. *J. biol. Chem*, 141, 871-876.
- Motilva, M., Martinez, I. A., Hundain, & Lalarde, J.** (1983). Effect of extracts from (*Phaseolus vulgaris*) and field bean (*Vicia faba*) varieties on intestinal D-glucose transport in rat in vivo. *J. Sci. Food Agric.*, 34, 239-246.
- Nair, V. C., Laffamme, J., & Duvnjak, Z.** (1991). Production of phytase by *Aspergillus ficuum* and reduction of phytic acid content in canola meal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54(3), 355-365.
- Opienska-Blauth, J., Charzosiński, M., & Berbec, H.** (1963). A new, rapid method of determining tryptophan. *Analytical Biochemistry*, 6(1), 69-76.
- Pallauf, J., & Rimbach, G.** (1997). Nutritional significance of phytic acid and phytase. *Archives of Animal Nutrition*, 50(4), 301-319.
- Pan, X., Terada, T., Okuda, M., & Inui, K. I.** (2004). The diurnal rhythm of the intestinal transporters SGLT1 and PEPT1 is regulated by the feeding conditions in rats. *The Journal of nutrition*, 134(9), 2211-2215.
- Phillippy, B. Q.** (2003). Inositol phosphates in foods. *Adv. Food Sci., Nutr. Res.*, 45, 1 - 60.
- Ravindran, V., Cowieson, A. J., & Selle, P. H.** (2008). Influence of dietary electrolyte balance and microbial phytase on growth performance, nutrient utilization, and excreta quality of broiler chickens. *Poultry Science*, 87(4), 677-688.
- Reddy, N. R., Sathe, S. K., & Salunkhe, D. K.** (1982). Phytates in legumes and cereals. In *Advances in food research* (Vol. 28, pp. 1-92). Academic Press.



- Richardson, N. L., Higgs, D. A., Beames, R. M., & McBride, J. R.** (1985). Influence of dietary calcium, phosphorus, zinc and sodium phytate level on cataract incidence, growth and histopathology in juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *The Journal of nutrition*, 115(5), 553-567.
- Selle, P. H., & Ravindran, V.** (2007). Microbial phytase in poultry nutrition. *Animal feed science and technology*, 135(1-2), 1-41.
- Singh, M., & Krikorian, A. D.** (1982). Inhibition of trypsin activity in vitro by phytate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(4), 799-800.
- Sklan, D., & Noy, Y.** (2000). Hydrolysis and absorption in the small intestines of posthatch chicks. *Poultry Science*, 79(9), 1306-1310.
- Skrede A.** (1970) Dietary blood in prevention of fish induced anemia mink. I. Iron absorption. *Studies. Acta Agr.Scand.* 20, 265-274.
- Szkudelski, T.** (1995). How does phytic acid decrease the absorption of elements in the digestive tract. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 4(2), 77-82.
- Thompson, L. U., Button, C., & Jenkins, D. A.** (1987). Phytic acid and calcium affect the in vitro rate of navi bean starch digestion and blood glucise response in humans. *American of clinical nutrition* 46, 467-473.
- Viveros, A., Brenes, A., Arija, I., & Centeno, C.** (2002). Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. *Poultry Science*, 81(8), 1172-1183.
- Welsch, C. A., Lachance, P. A., & Wasserman, B. P.** (1989 a). Dietary phenolic compounds: inhibition of Na<sup>+</sup>-dependent D-glucose uptake in rat intestinal brush border membrane vesicles. *The Journal of nutrition*, 119(11), 1698-1704.
- Welsch, C. A., Lachance, P. A., & Wasserman, B. P.** (1989 b). Effects of native and oxidized phenolic compounds on sucrase activity in rat brush border membrane vesicles. *The Journal of nutrition*, 119(11), 1737-1740.
- Wenk, C., & Zürcher, U.** (1990). Energy utilization by swine of nutritive fiber-rich by-products from the milling and food industry. *Archiv fur Tierernahrung*, 40(5-6), 423-430.
- Yonemochi, C., Takagi, H., Hanazumi, M., Hijikuro, S., Koide, K., Ina, T., & Okada, T.** (2000). Improvement of phosphorus availability by dietary supplement of phytase in broiler chicks. *Japanese poultry science*, 37(3), 154-161.