

# Interactions phytates – zinc chez le porcelet

*Patrick SCHLEGEL (1) et Catherine JONDREVILLE (2)*

*(1) Agroscope Liebefeld-Posieux, 1725 Posieux, Suisse*

*(2) INRA, Nancy Université, URAFPA, 54505 Vandoeuvre-les-Nancy, France*

*patrick.schlegel@alp.admin.ch*

## Interactions phytates – zinc chez le porcelet

Le zinc est un élément essentiel pour le métabolisme, un métal polluant pour l'environnement et une ressource non renouvelable. Les phytates sont identifiées comme le facteur alimentaire principal limitant la biodisponibilité du zinc chez le monogastrique. Les données provenant de cinq expériences étudiant la biodisponibilité du zinc, menées à l'INRA, ont permis de mettre en évidence, pour les aliments non supplémentés en zinc, une relation linéaire entre la teneur alimentaire en phosphore phytique non hydrolysé et la teneur en zinc de l'os. La nouvelle variable proposée « phosphore phytique non hydrolysée » représente la fraction en phosphore phytique résiduelle, suite à son hydrolyse, principalement par les phytases végétale et microbienne. Les résultats de la méta-analyse conduite sur la base de ces expériences indiquent que les phytates non hydrolysés réduisent la biodisponibilité du zinc natif, mais n'interagissent pas avec le zinc ajouté. La teneur en zinc de l'os augmente linéairement avec le zinc ajouté jusqu'à la maximisation des réserves osseuses. Le modèle permet de calculer la teneur en zinc de l'os attendue chez le porcelet en fonction de la teneur alimentaire en phosphore phytique, zinc natif et zinc ajouté et des activités phytasiques végétale et microbienne. Ce modèle, qui permet de mieux quantifier l'antagonisme des phytates sur la biodisponibilité du zinc, peut contribuer à réduire les marges de sécurité lors de la supplémentation en zinc alimentaire.

## Phytate – zinc interactions in piglets

Zinc is an essential trace element, a heavy metal and a non-renewable resource. The major dietary factor for reducing zinc bioavailability in pigs is phytate. Data from five INRA experiments on zinc bioavailability in piglets highlighted, for non-supplemented zinc diets, a linear correlation between non-hydrolyzed phytic phosphorus and bone zinc content. The new variable "non-hydrolyzed phytic phosphorus" represents the residual phytic phosphorus fraction remaining intact after hydrolysis by mainly vegetal and microbial phytase. Results from the meta-analysis on these five experiments indicated that non-hydrolyzed phytic phosphorus reduced native zinc bioavailability but did not interact with supplemented zinc. Bone zinc content responded linearly and quadratically to supplemented zinc. The model was used to calculate the expected bone zinc content in piglets based on dietary phytic phosphorus, native and supplemented zinc and on vegetal and microbial phytase activity. This model, which allows a better quantification of the phytate antagonism on zinc bioavailability, could be used to reduce safety margins when dietary zinc is supplemented.

## INTRODUCTION

Le zinc (Zn) est un élément essentiel pour le métabolisme, un élément polluant pour l'environnement et une ressource non renouvelable.

Les phytates sont identifiés comme le facteur alimentaire principal limitant la biodisponibilité du zinc chez le monogastrique, en raison de la formation de complexes insolubles phytates-zinc. La présence de phytates dans les aliments destinés aux porcs est inévitable, car c'est la forme principale de stockage de phosphore (P) dans les grains. Le phosphore sous forme phytique y représente entre 55 et 75% du P total. Les aliments pour porcelets à base de céréales et de tourteau de soja contiennent environ 2,0 à 2,5 g de P phytique / kg. Dans les grains de blé, le zinc et le phosphore phytique sont en partie liés (Rodrigues-Filho *et al.*, 2005) et la relation positive entre ces deux composantes dans les matières premières d'origine végétale, environ 10 mg de Zn pour 1 g de P phytique, suggère également leur liaison (Revy *et al.*, 2003).

Les phytases hydrolysent les phytates permettant ainsi la mise à disposition du phosphore (Pointillart, 1994). L'hydrolyse des phytates devrait permettre la libération du zinc qui y est lié et par conséquent améliorer la disponibilité de cet oligo-élément. Cet effet a été vérifié expérimentalement chez le porc (Pallauf *et al.*, 1992 ; 1994 ; Lei *et al.*, 1993 ; Adeola, 1995 ; Jondreville *et al.*, 2005). L'ajout de 500 FTU de phytase microbienne (produite par *Aspergillus niger*) dans une ration à base de maïs et de tourteau de soja permet de remplacer un apport d'environ 30 mg de Zn sous forme  $ZnSO_4$  chez le porc (Jondreville *et al.*, 2005). Il est également envisageable que l'activité phytasique végétale dans l'aliment du porc, contribue à la libération du zinc. Cependant, ces résultats ne nous renseignent pas sur la nature de l'interaction entre phytate et zinc natif d'une part et zinc ajouté d'autre part.

Afin de mieux connaître la nature de l'interaction entre phytates et zinc, notre travail présenté a consisté à rechercher un modèle permettant de prédire la teneur en zinc de l'os en fonction de la supplémentation en zinc dans des aliments présentant des teneurs en phytates et des activités phytasiques variables.

## 1. MATERIEL ET METHODES

Cinq expériences menées à l'INRA (UMR SENAH, Saint-Gilles, France) au cours des dix dernières années ont été utilisées. Ces expériences ont été menées avec une méthodologie similaire et visaient à évaluer la réponse de la teneur en zinc de l'os à la supplémentation en zinc dans des aliments contenant des quantités variables de phytates et de phytase chez le porcelet sevré. Les données introduites dans la base représentent les moyennes de chaque traitement expérimental.

Les caractéristiques alimentaires prises en considération étaient la teneur en phosphore phytique (PPhyt), en zinc sous forme native (Znn) et ajoutée (Znaj) et les activités phytasiques végétale (Phytaseveg) et microbienne (Phytasemic). Pour rendre compte de l'hydrolyse des phytates, principalement par l'activité de la phytase végétale et / ou microbienne, une nouvelle variable appelée phosphore phytique non hydrolysé (PPhytNH) a été introduite dans le modèle. Cette variable est calculée comme la teneur en P phytique de l'aliment diminuée de la quantité de phosphore libérée par la phytase.

Cette dernière grandeur a été estimée à partir d'une relation visant à prédire la teneur en phosphore digestible des aliments pour porcs en croissance à partir de leurs teneurs en P phytique et non phytique et de leurs activités phytasiques végétale et microbienne (Létourneau-Montminy *et al.*, 2010). La partie de cette équation liée à l'hydrolyse des phytates (termes comprenant PPhyt, Phytaseveg et Phytasemic) a été extraite pour estimer une grandeur qui a ensuite été divisée par 0,75, représentant l'absorption de phosphore libéré par hydrolyse (Létourneau-Montminy, 2009).

Le phosphore phytique non hydrolysé (PPhytNH) est la différence entre P Phytique et cette valeur.

La teneur en zinc de l'os a été sélectionnée comme indicateur de statut en zinc de l'animal.

A l'exception de trois aliments expérimentaux (Revy *et al.*, 2002 ; 2004 ; 2006) aucun des aliments ne permettait d'atteindre une teneur en Zn de l'os au-delà de 95 mg / kg MS.

Au final, la base de données comportait 5 expériences publiées entre 2002 et 2010 et contenait 31 traitements.

Les statistiques descriptives de chacune des variables sont présentées au Tableau 1. Les données ont été analysées avec la procédure GLM de Minitab (2007). L'effet fixe de l'expérience a été introduit dans le modèle afin de prendre en compte la variabilité inter-expérience (Sauvant *et al.*, 2008):

$$Zn_{os_{wxy}} = a + a_w + b \cdot Znn_{wx} + c \cdot Znaj_{wy} + d \cdot Znaj_{wy}^2 + f \cdot PPhytNH_{wz} + g \cdot PPhytNH_{wz} \cdot Znn_{wx} + h \cdot PPhytNH_{wz} \cdot Znaj_{wy} + e_{wxy}$$

où  $Zn_{os_{wxy}}$  est la teneur en Zn de l'os [mg/kg MS] obtenue lors de l'expérience  $w$  avec un aliment contenant  $x$  [mg/kg],  $y$  [mg/kg] et  $z$  [g/kg] des variables indépendantes respectives  $Znn$ ,  $Znaj$  et  $PPhytNH$ ,  $a$  est l'ordonnée à l'origine et  $a_w$  l'ajustement de l'ordonnée à l'origine pour chaque expérience  $w$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $d$ ,  $f$ ,  $g$  et  $h$  sont les coefficients de chaque variable indépendante et  $e$  est l'erreur résiduelle.

**Tableau 1** - Statistique descriptive des variables<sup>1</sup>

| Par kg d'aliment                    | Moy  | ET   | MIN | MAX  |
|-------------------------------------|------|------|-----|------|
| <b>Zntot [mg]</b>                   | 49.9 | 23.5 | 25  | 128  |
| <b>Znn [mg]</b>                     | 31.2 | 4.1  | 25  | 38   |
| <b>Znaj [mg]<sup>2</sup></b>        | 18.7 | 23.3 | 0   | 102  |
| <b>Phytaseveg [U]</b>               | 117  | 56   | 27  | 201  |
| <b>Phytasemic [FTU]<sup>3</sup></b> | 258  | 385  | 0   | 1219 |
| <b>PPhyt [g]<sup>4</sup></b>        | 2.2  | 0.7  | 0.8 | 2.9  |
| <b>PPhytNH [g]</b>                  | 1.1  | 0.6  | 0.3 | 2.0  |
| <b>Zn os [mg/kg MS]</b>             | 66   | 21   | 33  | 103  |

<sup>1</sup>D'après Revy *et al.*, 2002, 2004, 2006, Jondreville *et al.*, 2005 et Schlegel *et al.*, 2010.

<sup>2</sup>Zn ajouté sous forme de sulfate.

<sup>3</sup>Phytase microbienne produite par *Aspergillus niger*.

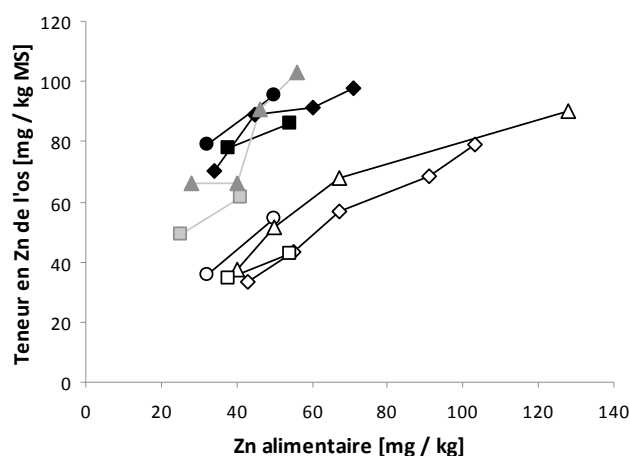
<sup>4</sup>P phytique provient essentiellement des matières premières utilisées.

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. Variable phosphore phytique non hydrolysée

L'analyse graphique de la réponse de la teneur en zinc de l'os des porcelets à la concentration de zinc alimentaire révèle deux groupes distincts (Figure 1) : les teneurs en zinc osseux

les plus faibles correspondent aux aliments riches en phytates sans phytase ajoutée (points blancs) et les teneurs les plus élevées aux aliments pauvres en phytates ou présentant une activité phytasique élevée (respectivement points gris et noirs).



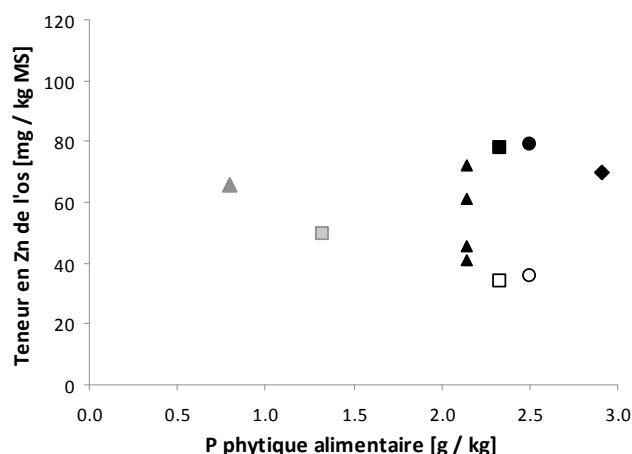
**Figure 1** - Teneur en Zn de l'os chez le porcelet en fonction de la concentration de Zn alimentaire

Graphiquement, il semble que la pente de la réponse de la teneur en zinc de l'os à l'apport alimentaire de zinc soit identique pour les deux groupes d'aliments. Cette observation suggère l'absence d'interaction entre phytates et zinc ajouté sous forme de sulfate. En d'autres termes, ces évolutions parallèles suggèrent que les phytates et les phytases n'influencent que la biodisponibilité du Zn sous forme native et pas celle du zinc ajouté.

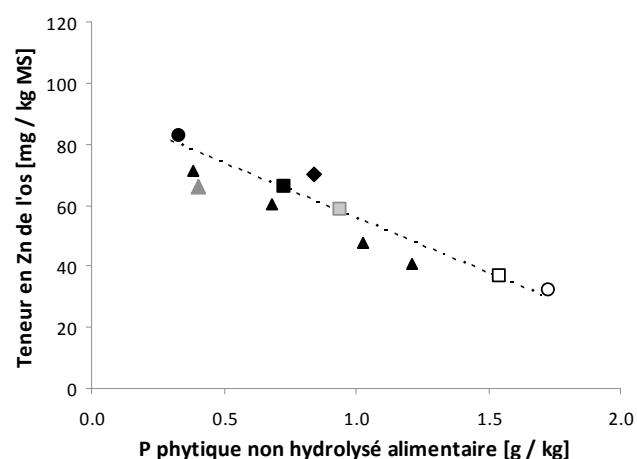
Ainsi, l'interaction entre phytate/phytase et zinc natif a d'abord été examinée. La réponse de la teneur en Zn de l'os à la teneur en phosphore phytique (PPhyt) des aliments expérimentaux non supplémentés en zinc montre une grande hétérogénéité due à l'effet de l'activité phytasique alimentaire (Figure 2). En revanche, le remplacement de la variable PPhyt par la variable du phosphore phytique non hydrolysé (PPhytNH) permet d'établir une relation linéaire qui démontre un effet antagoniste des phytates sur la disponibilité du zinc natif. (Figure 3) :

$$\text{Zn os} = 91,7 \text{ (P < 0,001)} - 36,1 \text{ (P = 0,001)} * \text{PPhytNH},$$

$$R^2 = 0,81, \text{ETR} = 7,24.$$



**Figure 2** - Teneur en Zn de l'os chez le porcelet en fonction de la concentration alimentaire de P phytique dans des aliments non supplémentés en Zn



**Figure 3** - Teneur en Zn de l'os chez le porcelet en fonction de la concentration alimentaire de P phytique non hydrolysé dans des aliments non supplémentés en Zn

## 2.2. Teneur en zinc de l'os en fonction de l'apport alimentaire en zinc et en phosphore phytique non hydrolysé

Les résultats obtenus sur la teneur en zinc de l'os sont présentés au Tableau 2.

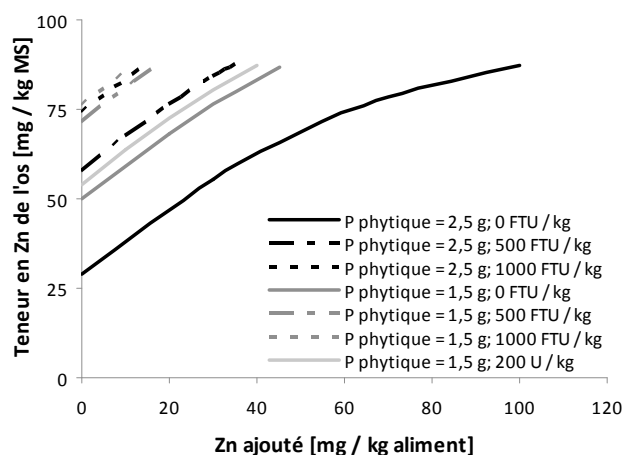
**Tableau 2** - Teneur en Zn de l'os de porcelets sevrés [mg/kg MS] en fonction des concentrations alimentaires de P phytique non hydrolysé [g/kg] et de Zn natif et ajouté [mg/kg]<sup>1</sup>

| Variable          | Coeff.    | Valeur P |
|-------------------|-----------|----------|
| Constante         | 30,7      | 0,017    |
| Znn               | 1,97      | < 0,001  |
| PPhytNH           |           | n.s.     |
| Znn*PPhytNH       | -1,15     | < 0,001  |
| Znaj              | 1,01      | < 0,001  |
| Znaj <sup>2</sup> | - 0,00422 | 0,016    |
| Znaj*PPhytNH      |           | n.s.     |
| R <sup>2</sup>    |           | 0,92     |
| ETR               |           | 5,86     |

<sup>1</sup>D'après Revy et al., 2002, 2004, 2006, Jondreville et al., 2005 et Schlegel et al., 2010.

L'effet positif (Znn, P < 0,001) du zinc natif sur le statut en zinc du porcelet est nettement affaibli par son interaction avec les phytates non hydrolysés (Znn\*PPhytNH, P < 0,001). Les phytates non hydrolysés n'interagissent pas avec le zinc ajouté (Znaj\*PPhytNH, P > 0,10). La teneur en zinc de l'os augmente de manière linéaire (Znaj, P < 0,001) et quadratique (Znaj<sup>2</sup>, P < 0,001) avec l'addition de zinc dans l'aliment. et effet quadratique est dû au plafonnement de la teneur en zinc de l'os lorsque l'apport alimentaire de zinc augmente.

L'évolution de la teneur en zinc de l'os obtenue à partir des paramètres du modèle présenté au tableau 2 est illustrée pour différents types d'aliments caractérisés par des teneurs en zinc natif, en phosphore phytique et en activité phytasique variable (Figure 4).



**Figure 4** - Teneur en Zn de l'os chez le porcelet en fonction du Zn supplémenté dans différents types d'aliments

Il est important de noter que cette relation a été établie dans le seul but de décrypter la relation entre phytates/phytase et zinc alimentaire.

En particulier, l'effet quadratique du zinc ajouté n'est valable que dans le domaine de validité du modèle, qui est explicité à la figure 4.

En particulier, nous ne remettons pas en cause la maximisation de la teneur en zinc de l'os pour des apports alimentaires de zinc qui excèderaient ceux de notre base de données. Toutefois, la relation que nous avons établie offre la possibilité d'adapter la supplémentation en zinc en fonction du potentiel antagoniste de l'aliment formulé.

## CONCLUSION

Le modèle proposé pour évaluer la nature de l'interaction entre le zinc et la phytate alimentaire fait intervenir une nouvelle grandeur « phosphore phytique non hydrolysé ». Cette variable, qui inclut la teneur en phosphore phytique et les activités phytasique végétale et microbienne, peut s'appliquer à un vaste panel d'aliments. La présente méta-analyse permet de confirmer que 1) ni le phosphore phytique, ni la phytase n'influencent la biodisponibilité du zinc ajouté ; 2) la libération de zinc par la phytase est proportionnelle à celle de phosphore et que l'usage de phytase microbienne offre des possibilités importantes chez le porc pour valoriser le zinc sous forme native. Le modèle mérite cependant d'être validé par d'autres expériences, notamment avec des aliments moins riches en phytates (aliments contenant d'avantage de protéines animales, tel que co-produits laitiers) et contenant des activités phytasiques végétales variables.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adeola O., 1995. Digestive utilization of minerals by weanling pigs fed copper- and phytase-supplemented diets. *Can. J. Anim. Sci.*, 75, 603-610.
- Jondreville C., Hayler R., Feuerstein D., 2005. Replacement of zinc sulphate by microbial phytase for piglets given a maize-soya-bean meal diet. *Anim. Sci.*, 81, 77-83.
- Lei X.G., Ku P.K., Miller E.R., Ullrey D.E., Yokoyama M.T., 1993. Supplemental microbial phytase improves bioavailability of dietary zinc to weanling pigs. *J. Nutr.*, 123, 1117-1123.
- Létourneau-Montminy M.P., 2009. Modélisation du métabolisme phosphocalcique chez le porc et la volaille. Thèse de doctorat, AgroparisTech, Paris, France.
- Létourneau-Montminy M.P., Narcy A., 2010. Communication personnelle.
- Minitab, 2007. Minitab Version 15.1.1.0. for Windows. In Minitab Inc., State College, United States of America.
- Pallauf J., Höhler D., Rimbach G., 1992. Effect of microbial phytase supplementation to a maize-soya-diet on the apparent absorption of Mg, Fe, Cu, Mn and Zn and parameters of Zn-status in piglets. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 68, 1-9.
- Pallauf J., Rimbach G., Pippig S., Schindler B., Höhler D., Most E., 1994. Dietary effect of phytogenic phytase and an addition of microbial phytase to a diet based on field beans, wheat, peas and barley on the utilization of phosphorus, calcium, magnesium, zinc and protein in piglets. *Z. Ernährungswiss.*, 33, 128-135.
- Revy P.S., Jondreville C., Dourmad J.Y., Guinotte F., Nys Y., 2002. Bioavailability of two sources of zinc in weanling pigs. *Anim. Res.*, 51, 315-326.
- Revy P.S., Jondreville C., Dourmad J.Y., Nys Y., 2003. Le zinc dans l'alimentation du porc: oligo-élément essentiel et risqué potentiel pour l'environnement. *INRA Prod. Anim.*, 16, 3-18.
- Revy P.S., Jondreville C., Dourmad J.Y., Nys Y., 2004. Effect of zinc supplemented as either an organic or an inorganic source and of microbial phytase on zinc and other minerals utilisation by weanling pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 116, 93-112.
- Revy P.S., Jondreville C., Dourmad J.Y., Nys Y., 2006. Assessment of dietary zinc requirement of weaned piglets fed diets with or without microbial phytase. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 90, 50-59.
- Pointillart A., 1994. Phytates, phytases : leur importance dans l'alimentation des monogastriques. *INRA Prod. Anim.*, 7, 29-39.
- Rodrigues-Filho U.P., Vaz S.Jr., Felicissimo M.P., Scarpellini M., Cardoso D.R., Vinas R.C.J., Landers R., Schneider J.F., Mc Garvey B.R., Andersen M.L., Skibsted L.H., 2005. Heterometallic manganese/zinc-phytate complex as a model compound for metal storage in wheat grains. *J. Inorg. Biochem.*, 99, 1973-1982.
- Sauvant D., Schmidely P., Daudin J.J., St-Pierre N.R., 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal*, 2, 1203-1214.
- Schlegel P., Nys Y., Jondreville C., 2010. Zinc availability and digestive zinc solubility in piglets and broilers fed diets varying in their phytate contents, phytase activity and supplemented zinc source. *Animal*, 4, 200-209.