# Influence des phytates sur la disponibilité du zinc issu de différentes sources chez le porcelet sevré

Pierre-Stéphane REVY (1) (2), Catherine JONDREVILLE (1), Jean-Yves DOURMAD (1), François GUINOTTE (2), Alain COUPEL (2), Yves NYS (3)

(1) INRA, Unité Mixte de Recherches sur le Veau et le Porc, 35590 Saint-Gilles
(2) Calcialiment, Z.I. de la Gare, 22690 Pleudihen
(3) INRA, Station de Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly
Avec la collaboration technique de S. HILLION (1), F. PONTRUCHER (1), F. LE GOUEVEC (1),
Y. LEBRETON (1) et H. RENOULT (1)

# Influence des phytates sur la disponibilité du zinc issu de différentes sources chez le porcelet sevré

Quarante huit porcs, sevrés à 28 jours au poids vif moyen de 9,27 kg, ont été utilisés dans un essai de 19 jours dont l'objectif était d'évaluer la disponibilité du zinc. Deux sources organiques de zinc ont été comparées au sulfate de zinc dans un régime à base de maïs et de tourteau de soja avec ou sans addition de phytase microbienne. Huit régimes expérimentaux ont été formulés : le régime de base, contenant 32 mg/kg de zinc, le régime de base supplémenté avec 20 mg/kg de zinc sous forme de sulfate de zinc (ZnSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O) ou de l'une des deux sources organiques de zinc (ZnOrg1 ou ZnOrg2) et les quatre régimes précédents additionnés de 1000 unités (U) de phytase microbienne / kg. Le remplacement du sulfate par l'une des deux sources organiques de zinc ne modifie pas le bilan de zinc, la concentration en zinc de l'os, ni la teneur en zinc et l'activité de la phosphatase alcaline plasmatiques. Cependant, l'addition de phytase microbienne améliore la disponibilité du zinc. Nous estimons que l'addition de 1000 U / kg est équivalente à une addition de 37, 39, 50 et 36 mg/kg de zinc sous forme de ZnSO<sub>4</sub>, à partir respectivement de l'activité de la phosphatase alcaline et la teneur en zinc plasmatiques, la teneur en zinc de l'os et la quantité de zinc retenu. Le coefficient de rétention du zinc augmente de 14 % à 40 % lorsque le régime de base est supplémenté en phytase.

# The effect of dietary phytate on the bioavailability of zinc from organic and inorganic sources in weanling pigs

Forty-eight pigs, weaned at 28 d of age with an average body weight of 9.27 kg were used in a 19-d experiment devoted to the assessment of the bioavailability of zinc. Two organic sources of zinc were compared to zinc sulfate using a basal diet based on corn and soybean meal supplemented with or without microbial phytase. Eight experimental diets were formulated: the basal diet containing 32 mg/kg of zinc, the basal diet supplemented with 20 mg/kg of zinc from either sulfate (ZnSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O) or one of two organic sources (ZnOrg1 or ZnOrg2) and the same four previous diets supplemented with 1,000 units (U) of microbial phytase / kg. The replacement of ZnSO<sub>4</sub> by any of the two organic sources did not modify neither the zinc balance, the concentration of zinc in the bone and plasma nor the plasma alkaline phosphatase (AP) activity. However, the addition of microbial phytase considerably improved zinc bioavailability. The supplementation of 1,000 U phytase / kg of diet was estimated to be equivalent to the dietary addition of 37, 39, 50 and 36 mg/kg of zinc as ZnSO<sub>4</sub> when considering plasma AP activity, plasma zinc concentration, bone zinc concentration and zinc retention, respectively. Zinc retention increased from 14% of zinc intake for pigs fed the basal diet up to 40% when pigs were supplemented with microbial phytase.

#### INTRODUCTION

La supplémentation en zinc, dans l'alimentation du porc, excède largement les recommandations (INRA, 1989; NRC, 1998). Faiblement absorbé, le zinc se retrouve très concentré dans les lisiers et pourrait causer des phénomènes de pollution dans les zones à forte densité d'élevage porcin (JON-DREVILLE et al, 2002). Afin de minimiser ce risque, la Commission Européenne étudie la possibilité de réduire la teneur maximale autorisée en zinc dans les aliments du porcs, de 250 à 100 mg/kg. Une telle réduction des marges de sécurité plaiderait en faveur de la formulation de régimes dont le zinc serait plus disponible.

Les phytates présents dans l'aliment, en formant des complexes insolubles avec le zinc dans la lumière intestinale (DAVIES et NIGHTINGALE, 1975), diminuent fortement la disponibilité du zinc chez les animaux monogastriques (O'DELL et SAVAGE, 1960; OBERLEAS et al, 1962, 1966). La protection du zinc lié à des sources organiques contre l'interaction avec les phytates expliquerait l'amélioration de la disponibilité du zinc des sources organiques par rapport au sulfate, observée chez le poulet (WEDE-KIND et al, 1992; SWIATKIEWICZ et al, 2001). A l'inverse, cette amélioration n'a pas été observée chez le porc (HILL et al, 1986; WEDEKIND et al, 1994; SWINKELS et al, 1996; REVY et al, 2002). Selon WEDEKIND et al (1994), les différences de résultats entre les études sur volailles et sur porcs s'expliqueraient par des concentrations en phytates et en calcium plus élevées dans les aliments pour volailles que chez le porc.

L'objectif de cette étude est d'analyser l'interaction entre la source de zinc et les phytates sur la disponibilité du zinc chez le porcelet en post-sevrage nourri avec un régime assez riche en phytates. Pour cela, la disponibilité de deux sources organiques de zinc est évaluée par rapport au sulfate dans un aliment, avec ou sans addition de phytase microbienne.

#### 1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 1.1. Régimes expérimentaux

Un régime de base, contenant 32 mg/kg de zinc, a été formulé de façon à satisfaire l'ensemble des besoins nutritionnels du porc entre 5 et 20 kg (INRA, 1989; NRC, 1998), à l'exception du zinc (tableau 1). Dans ce régime à base de mais et de tourteau de soja, du son de blé chauffé (2 x 2 min à 900 W au micro-ondes) a été introduit afin d'augmenter la concentration en phytates de l'aliment sans augmenter son activité phytasique. Les huit régimes expérimentaux sont le régime de base, le régime de base supplémenté avec 20 mg/kg de zinc sous forme de sulfate de zinc (ZnSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O) ou de l'une des deux sources organiques de zinc (ZnOrg1 ou ZnOrg2) et les quatre régimes précédents additionnés de 1000 unités (U) de phytase / kg. Les matières premières ont été broyées à la grille de 2,5 mm avant d'être mélangées. Durant le processus de fabrication des régimes, la température ne dépassait pas 50 °C. Les régimes ont été distribués aux animaux sous une forme granulée.

**Tableau 1 -** Ingrédients et composition analytique du régime de base.

| Mais         47,47           Tourteau de soja 50 %         20,00           Lactosérum doux déshydraté         14,08           Son de blé chauffé         8,00           Isolat de soja         3,96           Huile de soja         2,94           Phosphate monocalcique         1,37           Carbonate de calcium         1,13           L-lysine HCl         0,28           DL-méthionine         0,13           L-thréonine         0,12           L-tryptophane         0,02           COV         0,50           Composition analytique         %           Matières sèche         90,54           Matières sèche         90,54           Matières azotées totales (MAT)         19,66           Matières grasses (MG)         5,35           Matières grasses (MG)         5,32           Cellulose brute (CB)         2,75           Amidon         31,3           Phosphore total         0,76           Phosphore phytique (2)         0,25           Calcium         0,95           Activité phytasique (3)         116           mg/kg           Magnésium         1594           Fer         231  | Ingrédient                     | %     |
|--|--------------------------------|-------|
| Lactosérum doux déshydraté  Son de blé chauffé  8,00  Isolat de soja  3,96  Huile de soja  2,94  Phosphate monocalcique  1,37  Carbonate de calcium  1,13  L-lysine HCl  0,28  DL-méthionine  0,12  L-thréonine  0,12  L-tryptophane  COV  0,50  Composition analytique  Matière sèche  Matières azotées totales (MAT)  Matières grasses (MG)  Cellulose brute (CB)  Amidon  Phosphore digestible (1)  Phosphore phytique (2)  Calcium  Magnésium  Fer  231  Zinc (4)  Cuivre  Malie de soja  3,96  8,00  3,96  B,00  3,96  B,00  3,94  B,01  B,02  B,03  B, | Maïs                           | 47,47 |
| Son de blé chauffé  Isolat de soja  Joséphate monocalcique  Phosphate monocalcique  Carbonate de calcium  L-lysine HCl  DL-méthionine  L-thréonine  COV  Composition analytique  Matière sèche  Matières azotées totales (MAT)  Matières grasses (MG)  Cellulose brute (CB)  Amidon  Phosphore digestible (1)  Phosphore phytique (2)  Calcium  Magnésium  Fer  Cuivre  Manganèse  Malie e soja  Josépha  Josép | Tourteau de soja 50 %          | 20,00 |
| Isolat de soja   | Lactosérum doux déshydraté     | 14,08 |
| Huile de soja Phosphate monocalcique 1,37 Carbonate de calcium 1,13 L-lysine HCl 0,28 DL-méthionine 0,13 L-thréonine 0,12 L-tryptophane 0,02 COV 0,50  Composition analytique Matière sèche Matières azotées totales (MAT) Matières grasses (MG) Cellulose brute (CB) Amidon Phosphore digestible (1) Phosphore phytique (2) Calcium Activité phytasique (3) Magnésium Per Fer 231 Zinc (4) Cuivre Manganèse 60 MJ/kg Energie digestible (ED) (1)  L-tryptophane 0,13 L-thréonine 0,12 Co,28 Co,28 Co,13 Co,13 Co,29 Co,20 Cov 0,20 Cov 0,20 Cov 0,20 Cov 0,50 Cov 0,76 Cov 0,75  | Son de blé chauffé             |       |
| Phosphate monocalcique Carbonate de calcium 1,13 L-lysine HCl 0,28 DL-méthionine 0,13 L-thréonine 0,12 L-tryptophane 0,02 COV 0,50  Composition analytique Matière sèche Matières azotées totales (MAT) Matières grasses (MG) Cellulose brute (CB) Amidon Phosphore total Phosphore digestible (11) Phosphore phytique (2) Calcium Activité phytasique (3) Magnésium Per Fer 231 Zinc (4) Cuivre Manganèse 60 MJ/kg Energie digestible (ED) (11)  1,37 1,37 1,37 1,37 1,37 1,38 1,39 4,6   | Isolat de soja                 | 3,96  |
| Carbonate de calcium  L-lysine HCl  DL-méthionine  O,13  L-thréonine  O,02  COV  O,50  Composition analytique  Matière sèche  Matières azotées totales (MAT)  Matières minérales  Matières grasses (MG)  Cellulose brute (CB)  Amidon  Phosphore total  Phosphore digestible (11)  Phosphore phytique (2)  Calcium  Activité phytasique (3)  Magnésium  Fer  Zinc (4)  Cuivre  Manganèse  MJ/kg  Energie digestible (ED) (11)  L-tryptophane  0,13  L-thréonine  0,02  COV  0,50  Cov  0,50  Cov  0,50  MAT)  19,66  MAT)  10,60  MAT)  10,01  | Huile de soja                  | 2,94  |
| Carbonate de calcium  L-lysine HCl  0,28  DL-méthionine  0,13  L-thréonine  0,12  L-tryptophane  COV  0,50  Composition analytique  Matière sèche  Matières azotées totales (MAT)  Matières minérales  Matières grasses (MG)  Cellulose brute (CB)  Amidon  Phosphore total  Phosphore digestible (1)  Phosphore phytique (2)  Calcium  Activité phytasique (3)  Magnésium  Fer  231  Zinc (4)  Cuivre  Manganèse  60  MJ/kg  Energie digestible (ED) (1)  11,13  0,28  0,13  0,13  11, | Phosphate monocalcique         | 1,37  |
| DL-méthionine  L-thréonine  O,12  L-tryptophane  O,02  COV  O,50  Composition analytique  Matière sèche  Matières azotées totales (MAT)  Matières minérales  Matières grasses (MG)  Cellulose brute (CB)  Amidon  Phosphore total  Phosphore digestible (1)  Phosphore phytique (2)  Calcium  Magnésium  Fer  Zinc (4)  Cuivre  Manganèse  MJ/kg  Energie digestible (ED) (1)  L-tryptophane  0,12  L-tryptophane  0,02  0,50  Composition analytique  %  MAT)  19,66  90,54  MAT)  19,66  90,54  5,32  Cellulose brute (CB)  2,75  Anidon  31,3  Phosphore total  0,76  Phosphore digestible (1)  0,41  Phosphore phytique (2)  0,25  Calcium  0,95  Activité phytasique (3)  116  mg/kg  Magnésium  1594  Fer  231  Zinc (4)  32  Cuivre  Adaganèse  60  MJ/kg   | Carbonate de calcium           |       |
| L-thréonine  L-tryptophane  O,02  COV  O,50  Composition analytique  Matière sèche  Matières azotées totales (MAT)  Matières minérales  Matières grasses (MG)  Cellulose brute (CB)  Amidon  Phosphore total  Phosphore digestible (1)  Phosphore phytique (2)  Calcium  Activité phytasique (3)  Magnésium  Fer  Zinc (4)  Cuivre  Manganèse  MJ/kg  Energie digestible (ED) (1)  L-tryptophane  9,12  L-tryptophane  9,02  0,50  Composition analytique %  MAT)  19,66  MAT)  10,76  Phosphore total  0,76  Phosphore digestible (1)  0,41  Phosphore phytique (2)  0,25  Calcium  116  Magnésium  1594  Fer  231  Zinc (4)  32  Cuivre  Adaganèse  60  MJ/kg  Energie digestible (ED) (1)  | L-lysine HCl                   | 0,28  |
| L-tryptophane  COV  O,50  Composition analytique  Matière sèche  Matières azotées totales (MAT)  Matières minérales  Matières grasses (MG)  Cellulose brute (CB)  Amidon  Phosphore total  Phosphore digestible (1)  Phosphore phytique (2)  Calcium  O,76  Activité phytasique (3)  Magnésium  Ter  Tinc (4)  Cuivre  Manganèse  MJ/kg  Energie digestible (ED) (1)  O,50  O,50  Matières azotées totales (MAT)  19,66  MAT)  10,76  Matières azotées totales (MAT)  19,66  MAT)  19,66  MAT)  10,76  Matières azotées totales (MAT)  19,66  MAT)  19,66  MATIÈRE  10,75  10,75  11,6  MATIÈRE  10,75  11,6  MATIÈRE  11,6  | DL-méthionine                  | 0,13  |
| COV Composition analytique Matière sèche Matières azotées totales (MAT) Matières minérales Matières grasses (MG) Cellulose brute (CB) Amidon Phosphore total Phosphore digestible (1) Phosphore phytique (2) Calcium Activité phytasique (3) Magnésium Fer Magnésium Tisp4 Fer Magnapèse MJ/kg Energie digestible (ED) (1)  Matières grasses (MAT) 19,66 MAT) 19 | L-thréonine                    | 0,12  |
| Composition analytique%Matière sèche90,54Matières azotées totales (MAT)19,66Matières minérales5,35Matières grasses (MG)5,32Cellulose brute (CB)2,75Amidon31,3Phosphore total0,76Phosphore digestible (1)0,41Phosphore phytique (2)0,25Calcium0,95Activité phytasique (3)116mg/kgMagnésium1594Fer231Zinc (4)32Cuivre26Manganèse60MJ/kgEnergie digestible (ED) (1)14,6   | L-tryptophane                  | 0,02  |
| Matière sèche  Matières azotées totales (MAT)  Matières minérales  Matières grasses (MG)  Cellulose brute (CB)  Amidon  Phosphore total  Phosphore digestible (1)  Phosphore phytique (2)  Calcium  Activité phytasique (3)  Magnésium  Fer  Zinc (4)  Cuivre  Manganèse  MJ/kg  Energie digestible (ED) (1)  Poéda  19,66  190,54  2,75  31,3  10,76  10,76  10,41  10,41  10,41  10,41  10,41  10,41  10,41  11,6  | COV                            | 0,50  |
| Matières azotées totales (MAT)  Matières minérales  5,35  Matières grasses (MG)  Cellulose brute (CB)  Amidon  Phosphore total  Phosphore digestible (1)  Phosphore phytique (2)  Calcium  Activité phytasique (3)  Magnésium  Fer  Zinc (4)  Cuivre  Manganèse  MJ/kg  Energie digestible (ED) (1)  119,66  19,66  19,66  10,35  2,75  31,3  0,76  Phosphore total  0,76  Phosphore digestible (1)  0,41  0,41  0,41  0,41  0,41  0,41  0,41  0,76  Magnésium  116  Mg/kg  Magnésium  1594  Fer  231  Zinc (4)  32  Cuivre  46  MJ/kg   | Composition analytique         | %     |
| Matières minérales         5,35           Matières grasses (MG)         5,32           Cellulose brute (CB)         2,75           Amidon         31,3           Phosphore total         0,76           Phosphore digestible (1)         0,41           Phosphore phytique (2)         0,25           Calcium         0,95           Activité phytasique (3)         116           mg/kg           Magnésium         1594           Fer         231           Zinc (4)         32           Cuivre         26           Manganèse         60           MJ/kg           Energie digestible (ED) (1)         14,6  | Matière sèche                  | 90,54 |
| Matières grasses (MG)         5,32           Cellulose brute (CB)         2,75           Amidon         31,3           Phosphore total         0,76           Phosphore digestible (1)         0,41           Phosphore phytique (2)         0,25           Calcium         0,95           Activité phytasique (3)         116           mg/kg           Magnésium         1594           Fer         231           Zinc (4)         32           Cuivre         26           Manganèse         60           Energie digestible (ED) (1)         14,6  | Matières azotées totales (MAT) | 19,66 |
| Cellulose brute (CB)       2,75         Amidon       31,3         Phosphore total       0,76         Phosphore digestible (1)       0,41         Phosphore phytique (2)       0,25         Calcium       0,95         Activité phytasique (3)       116         mg/kg         Magnésium       1594         Fer       231         Zinc (4)       32         Cuivre       26         Manganèse       60         MJ/kg         Energie digestible (ED) (1)       14,6   | Matières minérales             | 5,35  |
| Cellulose brute (CB)       2,75         Amidon       31,3         Phosphore total       0,76         Phosphore digestible (1)       0,41         Phosphore phytique (2)       0,25         Calcium       0,95         Activité phytasique (3)       116         mg/kg         Magnésium       1594         Fer       231         Zinc (4)       32         Cuivre       26         Manganèse       60         MJ/kg         Energie digestible (ED) (1)       14,6   | Matières grasses (MG)          | 5,32  |
| Phosphore total         0,76           Phosphore digestible (1)         0,41           Phosphore phytique (2)         0,25           Calcium         0,95           Activité phytasique (3)         116           mg/kg           Magnésium         1594           Fer         231           Zinc (4)         32           Cuivre         26           Manganèse         60           Energie digestible (ED) (1)         14,6   | Cellulose brute (CB)           | 2,75  |
| Phosphore digestible (1)         0,41           Phosphore phytique (2)         0,25           Calcium         0,95           Activité phytasique (3)         116           mg/kg           Magnésium         1594           Fer         231           Zinc (4)         32           Cuivre         26           Manganèse         60           Energie digestible (ED) (1)         14,6  | Amidon                         | 31,3  |
| Phosphore phytique (2)         0,25           Calcium         0,95           Activité phytasique (3)         116           mg/kg           Magnésium         1594           Fer         231           Zinc (4)         32           Cuivre         26           Manganèse         60           Energie digestible (ED) (1)         14,6  | Phosphore total                | 0,76  |
| Calcium         0,95           Activité phytasique (3)         116           mg/kg           Magnésium         1594           Fer         231           Zinc (4)         32           Cuivre         26           Manganèse         60           MJ/kg           Energie digestible (ED) (1)         14,6  | Phosphore digestible (1)       | 0,41  |
| Activité phytasique (3)         116           mg/kg         1594           Fer         231           Zinc (4)         32           Cuivre         26           Manganèse         60           MJ/kg           Energie digestible (ED) (1)         14,6   | Phosphore phytique (2)         | 0,25  |
| mg/kg           Magnésium         1594           Fer         231           Zinc (4)         32           Cuivre         26           Manganèse         60           Energie digestible (ED) (1)         14,6   | Calcium                        | 0,95  |
| Magnésium         1594           Fer         231           Zinc (4)         32           Cuivre         26           Manganèse         60           MJ/kg           Energie digestible (ED) (1)         14,6   | Activité phytasique (3)        | 116   |
| Fer         231           Zinc (4)         32           Cuivre         26           Manganèse         60           MJ/kg           Energie digestible (ED) (1)         14,6  |                                | mg/kg |
| Zinc (4)       32         Cuivre       26         Manganèse       60         MJ/kg         Energie digestible (ED) (1)       14,6  | Magnésium                      | 1594  |
| Cuivre         26           Manganèse         60           MJ/kg           Energie digestible (ED) (1)         14,6  |                                | 231   |
| Manganèse 60  MJ/kg  Energie digestible (ED) (1) 14,6  | Zinc <sup>(4)</sup>            | 32    |
| MJ/kg Energie digestible (ED) (1) 14,6   | Cuivre                         | 26    |
| Energie digestible (ED) (1) 14,6   | Manganèse                      | 60    |
|  |                                | MJ/kg |
| Energie nette <sup>(5)</sup> 9,2   |                                | 14,6  |
|  | Energie nette <sup>(5)</sup>   | 9,2   |

<sup>(1)</sup> Valeur calculée en mesurant la concentration en P ou en énergie dans l'aliment et dans les fèces des porcs nourris avec le régime de base

#### 1.2. Animaux et procédures expérimentales

Quarante huit mâles castrés Piétrain x (Large White x Landrace), pesant en moyenne 9,27 ± 0,48 kg au sevrage (à 28 ± 1 jours), ont été placés dans des loges collectives dans lesquelles ils ont reçu, pendant une période d'adaptation de 7 jours, le régime de base ad libitum. Cette période d'adaptation avait pour objectif de réduire la variabilité de

<sup>(2)</sup> Valeur calculée à partir des tables INRA-AFZ (2002)

<sup>(3)</sup> Activité phytasique du régime de base supplémenté avec la phytase microbienne : 1335 U/kg

<sup>(4)</sup> Concentrations en zinc des régimes sans addition de phytase microbienne : 50, 49, 49 mg/kg et avec addition de phytase microbienne : 50, 50, 51 mg/kg, respectivement pour la source ZnSO<sub>4</sub>, ZnOrg1 et ZnOrg2

 <sup>(5)</sup> Valeur calculée d'après NOBLET et al (1994) :
 EN = 0,703 ED + 0,066 MG + 0,020 Amidon - 0,041 MAT - 0,041 CB

leurs réserves en zinc (HAHN et BAKER, 1993). A l'issue de cette période, six blocs de huit animaux chacun ont été constitués sur la base du poids vif. Les porcs ont ensuite été placés dans des cages à bilan métabolique individuelles en acier inoxydable pendant 19 jours. Durant cette période, la quantité journalière d'aliment allouée était ajustée à 3,5 % du poids vif et distribuée en trois repas égaux à 09h00, 13h00 et 17h00. La consommation individuelle d'aliment a été enregistrée quotidiennement. Les porcs avaient accès à de l'eau déminéralisée qui ne contenait pas de zinc détectable. Chaque porc a été pesé au début et à la fin de la période expérimentale. La température de la salle a été maintenue à 25 ± 1°C. A la fin de la période expérimentale et après une nuit de jeûne, les porcs ont été abattus par saignée après avoir subi une anesthésie par choc électrique.

#### 1.3. Collecte des échantillons

Chaque jour, pendant les huit derniers jours d'essai, les fèces et les urines de chaque porc ont été collectées et stockées à 0°C. A la fin de la période de collecte, les fèces de chaque animal ont été broyées et trois échantillons ont été prélevés : deux échantillons ont été séchés (102°C pendant 48 h) pour déterminer la teneur en matière sèche et le troisième a été lyophilisé et stocké à 4°C. L'urine a été homogénéisée et un échantillon représentatif, après filtration, a été stocké à 4°C. Au début et à la fin de la période expérimentale et après une nuit de jeûne, un prélèvement sanguin a été effectué sur chaque porc par ponction dans la veine jugulaire au moyen de vacutainers® héparinés. Le plasma, obtenu par centrifugation (1360 g, 10 min, 4°C), a été congelé à - 20°C. À l'abattage, les pattes des membres antérieurs ont été prélevées. La patte droite a été autoclavée à 120°C pendant 20 min afin d'extraire le métacarpe IV. Le métacarpe III de la patte gauche a été extrait par dissection, sans traitement par la chaleur. Les métacarpes ont été conservés à - 20°C.

## 1.4. Analyses

L'activité de la phytase du régime de base et des régimes supplémentés avec la phytase microbienne a été mesurée par méthode colorimétrique après incubation dans une solution de phytate de sodium (ENGELEN et al, 1994; FRAPIN, 1996). Une unité de phytase est définie comme la quantité d'enzyme qui libère 1 nmol de phosphate de la solution de phytate de sodium à 0,0051 mol/l par minute à pH 5,5 et à 37°C.

L'activité de la phosphatase alcaline du plasma a été mesurée selon la procédure de Sigma (Sigma 245, St Louis, MO, USA) sur un appareil Cobas Mira (Hoffman-LaRoche, Nutley, NJ).

Après centrifugation des échantillons de plasma mélangé avec du TCA à 20 %, le surnageant a été prélevé et dilué avec de l'acide nitrique à 1,2 mol/l.

Le métacarpe IV a été sectionné longitudinalement, puis séché à 103 °C toute une nuit. L'os a ensuite été minéralisé à 550 °C pendant 12 h dans un four à moufle. Les cendres ont

été pesées, puis broyées en une fine poudre. Les échantillons des aliments et des fèces ont été minéralisés à 550 °C pendant 8 h dans un four à moufle. Les cendres ont ensuite été minéralisées avec de l'acide nitrique à 70 % et du peroxyde d'hydrogène à 30 % sur un bain à sec jusqu'à évaporation, puis diluées dans de l'acide nitrique à 0,4 N. Les concentrations en calcium, magnésium, fer, zinc, cuivre et manganèse des régimes et la concentration en zinc du plasma, de l'os, des fèces et de l'urine ont été analysées en double par spectrométrie d'absorption atomique (SpectrAA 220 FS, Varian, Springvale, Australie). La concentration en phosphore des régimes a été déterminée selon la méthode colorimétrique Vanadate sur l'appareil Cobas Mira (Hoffman-LaRoche, Nutley, NJ).

Le moment de flexion, déterminé selon la méthode décrite par POINTILLART et al (1987), a été déterminé uniquement sur les métacarpes III des porcs nourris avec le régime de base et le régime de base supplémenté avec 20 mg/kg de zinc sous forme de sulfate, avec et sans addition de phytase.

### 1.5. Analyses statistiques

Les analyses statistiques des données ont été réalisées au moyen de la procédure GLM (General Linear Models) du logiciel SAS (Statistical Analysis System, 1990). Les données ont été soumises à deux analyses de variance à deux facteurs. La première analyse, qui avait pour objectif de comparer les trois sources de zinc, prenait uniquement en compte les données obtenues à partir des régimes supplémentés en zinc. Le modèle comprenait le bloc, la source de zinc, le niveau de phytase et l'interaction source de zinc x niveau de phytase. Comme ni l'effet de la source de zinc, ni l'interaction entre la source de zinc et le niveau de phytase, n'étaient significatifs pour aucun des critères utilisés, l'ensemble des données a été soumis à une seconde analyse de variance dont le modèle incluait le bloc, le niveau de zinc, le niveau de phytase et l'interaction niveau de zinc x niveau de phytase. La valeur de concentration en zinc et d'activité de la phosphatase alcaline du plasma obtenue en début d'essai pour chaque animal a été introduite dans le modèle comme covariable.

### 2. RÉSULTATS

La teneur en zinc et l'activité phytasique analysées dans les différents régimes correspondent aux valeurs attendues (tableau 1). Ni la source de zinc, ni l'interaction entre la source de zinc et le niveau de phytase n'influencent significativement le bilan de zinc, la teneur en zinc de l'os et du plasma et l'activité de la phosphatase alcaline plasmatique (données non présentées).

#### 2.1. Performances de croissance

La consommation d'aliment ne diffère pas entre les traitements, conformément au protocole expérimental, sauf pour les porcs nourris avec le régime de base qui n'ont pas consommé la totalité de l'aliment alloué en fin d'essai (tableau 2). La diminution de l'appétit est l'une des conséquences connues d'une carence en zinc. La supplémentation 58

**Tableau 2 -** Performances de croissance des porcs nourris avec le régime de base avec ou sans addition de zinc et de phytase microbienne <sup>(1)</sup>.

| Phytase (U/kg)               | 0    |      | 1000 |      | Effet (2) |      |         | ETR  |
|------------------------------|------|------|------|------|-----------|------|---------|------|
| Zinc (mg/kg)                 | 0    | 20   | 0    | 20   | Zn        | Phy  | Zn x Py | (2)  |
| Poids initial (kg)           | 9,87 | 9,87 | 9,86 | 10,0 | NS        | NS   | NS      | 0,6  |
| Poids final (kg)             | 16,1 | 16,6 | 16,5 | 16,9 | *         | NS   | NS      | 0,7  |
| Consommation d'aliment (g/j) | 444  | 455  | 455  | 457  |           |      |         |      |
| Gain moyen quotidien (g/j)   | 325  | 355  | 348  | 359  | **        | 0,06 | NS      | 21   |
| Indice de consommation       | 1,37 | 1,29 | 1,32 | 1,28 | *         | NS   | NS      | 0,07 |

Moyennes de n = 6 et n = 18 animaux, respectivement pour les régimes sans et avec addition de zinc

en zinc améliore le poids vif final (P < 0.05), le gain moyen quotidien (P < 0.01) et l'indice de consommation (P < 0.05). L'addition de phytase tend à améliorer le gain moyen quotidien (P = 0.06).

## 2.2. Digestibilité de la matière sèche et bilan de zinc

La digestibilité de la matière sèche augmente chez les porcs supplémentés en zinc (P < 0,05) ou en phytase (P < 0,001). Cependant, l'effet de la supplémentation en zinc est plus marqué chez les porcs nourris avec les régimes sans phytase (interaction zinc x phytase, P = 0,08) (tableau 3). La rétention de zinc (mg/j) augmente avec l'addition de zinc ou de phytase (P < 0,001), sans interaction zinc x phytase significative. Cependant, l'interaction zinc x phytase est significative sur la rétention de zinc lorsqu'elle est exprimée en pro-

portion de la quantité de zinc ingéré (P < 0,001). Pour les régimes sans phytase, le coefficient de rétention de zinc augmente de 14 à 18 % avec l'addition de zinc. Il atteint 40 % avec l'addition de phytase microbienne seule et 30 % avec l'addition à la fois de zinc et de phytase.

### 2.3. Mesures plasmatiques

L'addition de zinc ou de phytase dans le régime de base augmente l'activité de la phosphatase alcaline et la concentration en zinc du plasma (P < 0,001) (tableau 3). L'effet de la supplémentation en zinc sur l'activité de la phosphatase alcaline et la concentration en zinc du plasma est hautement significatif avec les régimes sans phytase, alors qu'il est plus limité chez les porcs supplémentés en phytase (interaction zinc x phytase, respectivement P < 0,05 et P = 0,06).

**Tableau 3 -** Digestibilité de la matière sèche, bilan de zinc, mesures plasmatiques et osseuses des porcs nourris avec le régime de base avec ou sans addition de zinc et de phytase microbienne <sup>(1)</sup>.

| Phytase (U/kg)<br>Zinc (mg/kg) | 0     |       | 1000         |       | Effet (2) |      |         | ETR   |
|--------------------------------|-------|-------|--------------|-------|-----------|------|---------|-------|
|                                | 0     | 20    | 0            | 20    | Zn        | Phy  | Zn x Py | (2)   |
| Matière sèche                  |       |       |              |       |           |      |         |       |
| Ingéré (g/j)                   | 495   | 508   | 508          | 510   |           |      |         |       |
| Digestibilité (%)              | 87,2  | 88,4  | 89,3         | 89,6  | *         | ***  | 0,08    | 0,8   |
| Bilan de zinc (mg/j)           |       |       |              |       |           |      |         |       |
| Ingéré                         | 17,4  | 27,8  | 1 <i>7,7</i> | 28,4  |           |      |         |       |
| Excrété fécal                  | 14,4  | 22,0  | 9,8          | 18,5  | ***       | ***  | 0,09    | 0,9   |
| Excrété urinaire               | 0,475 | 0,730 | 0,752        | 0,792 | NS        | 0,07 | NS      | 0,274 |
| Retenu                         | 2,48  | 5,08  | 7,17         | 9,18  | ***       | ***  | NS      | 0,92  |
| Rétention (% de l'ingéré)      | 14,5  | 18,3  | 40,4         | 32,2  | 0,05      | ***  | ***     | 3,3   |
| Plasma <sup>(3)</sup>          |       |       |              |       |           |      |         |       |
| Activité de la PA (U/l)        | 61,9  | 128   | 183          | 193   | ***       | ***  | *       | 33    |
| Zinc (mg/l)                    | 0,207 | 0,487 | 0,754        | 0,877 | ***       | ***  | 0,06    | 0,119 |
| Os                             |       |       |              |       |           |      |         |       |
| Cendres (% MS) (4)             | 35,1  | 35,9  | 36,8         | 38    | NS        | 0,05 | NS      | 2,9   |
| Zinc (mg/kg MS) (4)            | 35,9  | 53,3  | 79,1         | 93,5  | ***       | ***  | NS      | 11,6  |
| Moment de flexion (N.m) (5)    | 1,14  | 1,23  | 1,41         | 1,59  | NS        | **   | NS      | 0,19  |

Moyennes de n = 6 et n = 18 animaux, respectivement pour les régimes sans et avec addition de zinc

<sup>(2)</sup> Zn : effet du niveau de zinc, Phy : effet de la phytase, Zn x Py : interaction niveau de zinc x phytase ; \* : P < 0,05 ; \*\* : P < 0,01 ; ETR : écart type résiduel

<sup>(2)</sup> Zn : effet du niveau de zinc, Phy : effet de la phytase, Zn x Py : interaction niveau de zinc x phytase ; \* : P < 0,05 ; \*\* P < 0,01 ; \*\*\* P < 0.001.

ETR: écart type résiduel

<sup>(3)</sup> Valeur ajustée pour une valeur initiale de 196 U/l et 0,621 mg/l, respectivement pour l'activité de la phosphatase alcaline et la teneur en zinc du plasma

<sup>(4)</sup> MS : matière sèche

<sup>(5)</sup> Moyennes de n = 6 animaux quel que soit le régime

#### 2.4. Mesures osseuses

La teneur en zinc de l'os augmente de façon importante avec l'addition de zinc ou de phytase microbienne (P < 0.001), sans interaction significative entre les deux facteurs (tableau 3). La supplémentation en phytase tend également à augmenter le contenu en cendres de l'os par rapport à la matière sèche (P = 0.05). De plus, l'addition de phytase améliore la solidité de l'os mesurée par le moment de flexion (P < 0.01). La supplémentation en zinc n'a aucun effet sur cette dernière mesure.

#### 3. DISCUSSION

Le remplacement du sulfate de zinc par des sources organiques ne permet pas d'améliorer la disponibilité du zinc chez le porcelet sevré, d'après les indicateurs de statut utilisés dans cette étude. Des résultats allant dans le même sens avaient déjà été rapportés chez le porc par HILL et al (1986), WEDE-KIND et al (1994), SWINKELS et al (1996) et REVY et al (2002). Par contre, chez le poulet, WEDEKIND et al (1992) et récemment SWIATKIEWICZ et al (2001) ont observé une disponibilité plus élevée du zinc provenant d'un complexe zincméthionine par rapport au ZnSO<sub>4</sub>. Selon SWIATKIEWICZ et al (2001), la protection du zinc ajouté sous forme organique contre la formation de complexes insolubles avec les phytates expliquerait cette amélioration. Comme WEDEKIND et al (1994) l'ont suggéré, les différences entre les résultats obtenus chez le poulet et le porc pourraient être attribuées majoritairement aux différences de teneurs en phytates et en calcium de l'aliment plutôt qu'à des différences entre espèces. En effet, dans les études précédemment citées, les teneurs en phytates et en calcium dans les aliments des porcs étaient comprises respectivement entre 0,29 et 0,37 % et entre 0,58 et 0,95 %, alors qu'elles étaient bien plus élevées dans les aliments des poulets, respectivement de 0,59 à 1,24 % et de 0,92 à 1,1 %. Cependant, dans notre étude où les teneurs en phytates et en calcium sont élevées (respectivement 0,89 et 0,95 %), nous ne mettons pas en évidence de différence entre les sources organiques et le sulfate de zinc.

Les différents critères mesurés dans cette étude démontrent que l'addition de phytase microbienne améliore de façon considérable la disponibilité du zinc. L'effet positif de la phytase microbienne sur la disponibilité du zinc avait déjà été montré chez le porc par PALLAUF et al (1992), LEI et al (1993) et ADEOLA et al (1995). Cependant, du fait du schéma expérimental utilisé dans leurs études, ces auteurs n'étaient pas en mesure de fournir d'équivalence entre la phytase microbienne et le zinc ajouté. Seule la teneur en zinc du plasma obtenue par LEI et al (1993), indique que 1350 U de phytase / kg d'aliment sont équivalentes à une addition de 30 mg/kg de zinc sous forme de sulfate. Nos résultats nous permettent d'estimer que l'addition de 1000 U phytase / kg correspond à une supplémentation en zinc de 37, 39, 50 et 36 mg/kg sous forme de sulfate, à partir res-

pectivement de l'activité de la phosphatase alcaline du plasma, de la teneur en zinc du plasma, de la teneur en zinc de l'os et de la quantité de zinc retenu. Ces valeurs sont très largement supérieures aux estimations obtenues chez le poulet : 3,8 et 5,5 mg/kg de zinc sous forme de sulfate pour une addition de phytase respectivement de 600 et 1200 U/kg selon BIEHL et al (1995), et 9,2 mg/kg de zinc pour 1200 U/kg à partir des données de MOHANNA et NYS (1999).

Nos observations suggèrent que des caractéristiques spécifiques seraient impliquées dans les différences de résultats entre le porc et la volaille en ce qui concerne à la fois la comparaison des sources de zinc et l'efficacité de la phytase microbienne dans l'amélioration de la disponibilité du zinc. In vitro, la solubilité du complexe zinc-phytate dépend du pH (CHAMPAGNE, 1988). Le plus faible pH du gésier de poulet, entre 2,3 et 2,5 (HERPOL et VAN GREMBERGEN, 1967; FORD, 1974), par rapport à celui de l'estomac du porc au sevrage, entre 4,0 et 5,2 (LEIBHOLZ, 1981; WILSON et LEIBHOLZ, 1981), pourrait expliquer la différence de solubilité du complexe zinc-phytate dans le tube digestif entre le poulet et le porc.

La consistance relativement molle des fèces des porcs nourris avec le régime de base est aussi l'un des symptômes d'une carence en zinc (MILLER et al, 1968). La déficience en zinc expliquerait ainsi la diminution de la digestibilité de la matière sèche observée chez les porcs nourris avec le régime de base. La libération de zinc consécutive à l'addition de phytase microbienne serait en partie responsable de l'augmentation de la digestibilité de la matière sèche, en plus de la libération d'autres nutriments organiques tels que les protéines et l'amidon liés aux phytates (ZHANG et al, 2000).

#### **CONCLUSION**

Cette étude sur la disponibilité du zinc n'a pas permis de différencier les sources organiques du sulfate de zinc. Néanmoins, les résultats montrent clairement que l'addition de phytase microbienne dans un régime riche en phytates améliore significativement la disponibilité du zinc chez le porcelet sevré. Par conséquent, les besoins en zinc dépendent de la présence de phytase dans l'aliment. Ces résultats sont importants d'un point de vue pratique. Toutefois, avant leur prise en compte en formulation, d'autres études sur l'amélioration de la disponibilité du zinc par l'apport de phytase microbienne mériteraient d'être conduites, notamment à partir de régimes dont les matières premières contiennent de la phytase végétale. De plus, l'impact de différents niveaux d'apport de phytase sur la disponibilité du zinc doit être établi.

## **REMERCIEMENTS**

Les auteurs remercient particulièrement C.H. LACROIX et A. POINTILLART (INRA, LNSA, Jouy-en-Josas) pour la réalisation des tests de rupture osseuse.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADEOLA O., LAWRENCE A.L. SUTTON, CLINE T.R., 1995. J. Anim. Sci., 73, 3384-3391.
- BIEHL R.R., BAKER D.H., DELUCA H.F., 1995. J. Nutr., 125, 2407-2416.
- CHAMPAGNE E.T., 1988. J. Am. Coll. Nutr., 7, 499-508.
- DAVIES N.T., NIGHTINGALE R., 1975. Br. J. Nutr., 34, 243-258.
- ENGELEN A.J., VAN DER HEEFT F.C., RANDSDORP P.H.G., SMIT E.L.C., 1994. J. AOAC Int., 77, 760-764.
- FORD D.J., 1974. Br. Poult. Sci., 15, 131-140.
- FRAPIN D., 1996. Valorisation du phosphore phytique végétal chez l'oiseau : intérêt et mode d'action des phytases végétales et microbiennes. Thèse de doctorat, Ecole Supérieure Agronomique de Rennes. SRA, INRA, Centre de Tours.
- HAHN J.D., BAKER D.H., 1993. J. Anim. Sci., 71, 3020-3024.
- HERPOL C., VAN GREMBERGEN G., 1967. Ann. Biol. anim., Bioch. Biophys., 7, 33-38.
- HILL D.A., PEO E.R.Jr., LEWIS A.J., CRENSHAW J.D., 1986. J. Anim. Sci., 63, 121-130.
- INRA., 1989. L'Alimentation des Animaux Monogastriques : Porc, Lapin, Volailles. INRA éd., Paris, 49-76.
- INRA-AFZ, 2002. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage. Porcs, volailles, bovins, ovins, caprins, lapins, chevaux, poissons. D. Sauvant, J.-M. Perez, G. Tran, INRA éd., Paris.
- JONDREVILLE C., REVY P.S., DOURMAD J.Y., 2002. Book of abstracts of the 53rd Annual Meeting of EAAP, Caire, Egypt, 8, 100.
- LEI X.G., KU P.K., MILLER E.R., ULLREY D.E., YOKOYAMA M.T., 1993. J. Nutr., 123, 1117-1123.
- LEIBHOLZ J., 1981. Br. J. Nutr., 46, 59-69.
- MILLER E.R., LUECKE R.W., ULLREY D.E., BALTZER B.V., BRADLEY B.L., HOEFER J.A., 1968. J. Nutr., 95, 278-286.
- MOHANNA, C., NYS Y., 1999. Anim. Feed Sci. Technol., 77, 241-253.
- NOBLET J., SHI X.S., DUBOIS S., LECHEVESTRIER Y., CORNIAUX C., SAUVANT D., HENRY Y., 1994. Journées Rech. Porcine en France, 26, 235-250.
- NRC, 1998. Nutrient Requirements of Swine. (10<sup>ème</sup> éd.) National Academy Press, Washington, DC.
- O'DELL B L., SAVAGE J.E., 1960. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 103, 304-306.
- OBERLEAS D., MUHRER M.E., O'DELL B.L., 1962. J. Anim. Sci., 21, 57-61.
  OBERLEAS D., MUHRER M.E., O'DELL B.L., 1966. J. Nutr., 90, 56-62.
- PALLAUF J., HOHLER D., RIMBACH G., 1992. J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr., 68, 1-9.
- POINTILLART A., FOURDIN A., FONTAINE N., 1987. J. Nutr., 117, 907-913.
- REVY P.S., JONDREVILLE C., DOURMAD J.Y., GUINOTTE F., NYS Y., 2002. Anim. Res., 51, 315-326.
- SAS, 1990. SAS/STAT, User's Guide (Release 6.07) SAS Inst. Inc. Cary, NC, USA.
- SWIATKIEWICZ S., KORELESKI J., ZHONG D.Q., 2001. J. Anim. Feed Sci., 10, 317-328
- SWINKELS J.W.G.M., KORNEGAY E.T., ZHOU W., LINDEMANN M.D., WEBB K.E.Jr., VERSTEGEN M.W.A., 1996. J. Anim. Sci., 74, 2420-2430.
- WEDEKIND K.J., HORTIN A.E., BAKER D.H., 1992. J. Anim. Sci., 70, 178-187.
- WEDEKIND K.J., LEWIS A.J., GIESEMANN M.A., MILLER P.S., 1994. J. Anim. Sci., 72, 2681-2689.
- WILSON R.H., LEIBHOLZ J., 1981, Br. J. Nutr., 45, 321-336.
- ZHANG Z.B., KORNEGAY E.T., RADCLIFFE J.S., WILSON J.H., VEIT H.P., 2000. J. Anim. Sci., 78, 2868-2878.