

# Effets comparatifs de trois phytases sur la digestibilité du phosphore et du calcium chez le porc en croissance

Carlos SIMÕES NUNES, Patrick GUGGENBUHL, Arturo PIÑÓN QUINTANA

DSM Nutritional Products France, Centre de Recherche en Nutrition Animale (CRNA),  
BP 170, 68305 Saint-Louis cedex, France

Carlos.simoes-nunes@dsm.com

## Effets comparatifs de trois phytases sur la digestibilité du phosphore et du calcium chez le porc en croissance

L'objectif du présent travail a été d'évaluer les effets comparatifs de 3 phytases sur la digestibilité du P et du Ca chez le porc en croissance. Une phytase de *E. coli* a été utilisée aux taux de 250 U/kg (C250) et de 500 U/kg (C500) respectivement. Les phytases de *A. niger* et de *P. lycii* l'ont été aux taux de 500 U/kg (N500) et de 750 U/kg (L750) respectivement. La concentration fécale de P a été significativement réduite par les 3 phytases. La réduction la plus faible a été obtenue pour C250. La digestibilité du P a été améliorée de 13,8, 18,6, 18,3 et 17,9 unités par C250, C500, N500 et L750 respectivement. Les équivalences en P ont été respectivement de 0,4922, 0,7323, 0,6784 et 0,6779 g de P/kg d'aliment digéré en plus que le contrôle. La digestibilité du Ca a aussi été significativement améliorée par les 3 phytases. Les 3 phytases ont ainsi amélioré la digestibilité du P et du Ca et réduit l'excrétion fécale de P chez le porc en croissance nourri avec un aliment contenant du P exclusivement d'origine végétale.

L'effet de la phytase de *E. coli* sur la digestibilité du P au taux de 250 U/kg a été significativement inférieur à ceux des 2 autres phytases aux doses recommandées. Les effets obtenus avec une dose de 500 U/kg de la phytase de *E. coli* ont été très similaires à ceux des 2 autres phytases aux doses recommandées.

## Comparative effects of three phytases on the phosphorus and calcium digestibility in the growing pig

The aim of the present experimental work was to evaluate in the growing pig the comparative effects on P and Ca digestibility of the dietary inclusion of 3 different phytases. An *E. coli* phytase was included in the feed at the levels of 250 (C250) and 500 U/kg (C500) respectively, that of *A. niger* at that of 500 U/kg (N500) and that of *P. lycii* at that of 750 U/kg (L750).

All the phytases significantly reduced the P faecal concentration. The reduction in the P faecal concentration for C500 was significantly higher than for C250.

The P digestibility was improved by 13.8, 18.6, 18.3 and 17.9 percentage units by C250, C500, N500 and L750 respectively.

The P equivalencies, considered as supplemental P digested comparatively to the non-supplemented control, of C250, C500, N500 and L750 were 0.4922, 0.7323, 0.6784 and 0.6779 g of full available P/kg of feed respectively. Ca digestibility was also significantly improved by the phytases.

It can be concluded that the three phytase preparations improved the digestibility and the apparent absorption of the P and Ca in the growing pig fed a diet containing P exclusively from vegetable origin. The effect of the inclusion level of 500 U/kg of the *E. coli* phytase on the P digestibility appeared to be very similar to those induced by the *A. niger* and *P. lycii* phytases at the recommended levels.

## INTRODUCTION

L'addition de phytase au régime alimentaire du porc  $\alpha$ , généralement, résulte en une amélioration très importante de la digestibilité du P ayant comme un de ses effets une réduction très conséquente de l'exportation fécale de P (Jongbloed et al., 2000; Simões Nunes, 1993; Simões Nunes et Guggenbuhl, 1998; Simons et al., 1990; Zhang et al., 2000).

Le nombre des phytases présentes sur le marché va croissant et l'origine microbienne des phytases commercialisées se diversifie.

A notre connaissance aucune comparaison directe des phytases ayant comme origine l'expression des gènes de *E. coli*, *A. niger* et *P. lycii* n'a été rapportée à ce jour pour leurs effets chez le porc. Ainsi, l'objectif du présent travail a été d'évaluer comparativement ces 3 phytases dans leurs effets sur la digestibilité du P et du Ca chez le porc en croissance.

L'essai a été conduit en novembre et décembre 2004 dans les installations du Centre de Recherche en Nutrition Animale (CRNA), DSM Nutritional Products France, BP 170, 68305 Saint-Louis cedex, France. Il a été réalisé en respectant la législation française sur l'expérimentation sur animaux vivants.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Animaux et logement

Dix porcs mâles castrés en croissance Large White x Landrace x Piétrain ayant un poids vif initial et final de  $32,2 \pm 2,47$  kg et de  $59,8 \pm 3,97$  kg respectivement ont été utilisés. Les animaux ont été logés individuellement en cages placées dans une salle climatisée. Chaque cage, à sol en caillebotis plastique, était équipée de 2 abreuvoirs et d'une mangeoire en acier inoxydable. La température de la salle était de 20-21°C et l'humidité relative de 50 %.

### 1.2. Alimentation et conditions d'expérimentation

Dans un dispositif de double carré Latin chaque porc a reçu pendant 7 jours un des 5 régimes alimentaires utilisés (A, B, C, D et E). Les régimes alimentaires distribués étaient les suivants : régime contrôle (A), régime A additionné de 250 U/kg de la phytase de *E. coli* (C250 - B), régime A additionné de 500 U/kg de cette même phytase (C500 - C), régime A supplémenté avec 500 U/kg de la phytase de *A. niger* (N500 - D) et le régime A additionné de 750 U/kg de la phytase de *P. lycii* (L750 - E).

Toutes les phytases étaient sous forme granulée. Le régime alimentaire de contrôle a été formulé de façon d'une part à n'apporter du P que d'origine végétale et d'autre part à couvrir les besoins des animaux, à l'exception du P disponible, selon Henry et al. (1989) et le NRC (1998).

Le régime alimentaire de contrôle avait un taux théorique en P de 0,41 % et un taux analysé de 0,381 %. L'activité enzy-

**Tableau 1** - Composition (%) du régime alimentaire de base (A)

| Ingrédients   | A       |
|---|---------|
| Maïs  | 53      |
| Tourteau de soja                                      | 18,2    |
| Orge  | 13      |
| Farine d'avoine                                       | 6       |
| Son de blé  | 5,4     |
| Huile de soja   | 1       |
| Minéraux <sup>(1)</sup> , vitamines et AA de synthèse | 3,4     |
| Protéine brute N x 6,25                               | 15,5    |
| Lysine %  | 0,96    |
| Méthionine + cystine %                                | 0,54    |
| Energie digestible estimée MJ / kg                    | 13,31   |
| Ca calculé %  | 0,66    |
| Ca analysé %  | 0,725   |
| P calculé %   | 0,41    |
| P analysé %   | 0,381   |
| P théoriquement disponible %                          | 0,11    |
| P phytique calculé %                                  | 0,28    |
| Activité phytasique U <sup>(a)</sup> / kg             | 183 ± 3 |

<sup>(1)</sup> Mixture sans P minéral ;

<sup>(a)</sup> Quantité de l'enzyme qui libère 1 mmole de phosphate inorganique par minute à partir de 0,005 moles par litre de phytate de sodium à pH 5,5 et à 37°C.

matique des préparations de phytase et des aliments utilisés a été mesurée. Une unité de phytase est définie comme la quantité de l'enzyme qui libère 1 mmole de phosphate inorganique par minute à partir de 0,005 moles par litre de phytate de sodium à pH 5,5 et à 37°C.

Un marqueur indigestible (oxyde de chrome) a été additionné à la concentration de 0,4 % à tous les régimes alimentaires pour permettre de calculer la digestibilité du P et du Ca. L'aliment a été distribué *ad libitum* sous forme de farine et les animaux avaient libre accès à l'eau de boisson. La digestibilité du Ca n'a pas été corrigée pour l'apport de Ca par l'eau de boisson. La teneur moyenne en Ca de l'eau potable distribuée dans la région est de 120 mg/L.

### 1.3. Mesures expérimentales

Les concentrations fécales en P et en Ca ont été mesurées à la fin de chaque période de 7 jours de consommation des régimes expérimentaux. Les fèces ont été échantillonnées par cage (approximativement le même volume et à la même heure de la journée) pendant les 3 derniers jours de chaque période. Le chrome, le P et le Ca ont été déterminés selon les méthodes standard de l'Association of Official Analytical Chemists (1990) en utilisant un spectrophotomètre Vista-MPX ICP-OES (Varian Australia Pty Ltd, Mulgrave Victoria, 3170 Australie). La digestibilité apparente (% de l'ingéré) du P et du Ca a été calculée pour chacune des périodes de 3 jours déjà mentionnées. Ainsi, chaque régime alimentaire a été testé 10 fois.

### 1.4. Analyse statistique

Le traitement statistique des données a consisté à calculer la moyenne et l'écart moyen, et à pratiquer une analyse de

variance hiérarchique à deux facteurs. Le modèle mathématique était le suivant :

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_{ij} + Z_{ijk}$$

où  $\mu$  est la moyenne,  $A_i$  est l'effet du régime alimentaire,  $B_{ij}$  est l'effet combiné du régime alimentaire et de l'animal et  $Z_{ijk}$  est la valeur résiduelle. L'analyse de variance a été suivie par un test de Duncan quand un effet  $A_i$  significatif sans effet  $B_{ij}$  a été observé (Snedecor et Cochran, 1989). Ces calculs ont été réalisés en utilisant le Statistical Analysis System (SAS, 1990).

## 2. RESULTATS

L'activité phytasique mesurée dans les aliments supplémentés était en accord général avec les taux d'inclusion programmés (Tableau 2). Toutefois, la récupération a été plus élevée qu'espéré dans l'aliment N500 et plus faible dans l'aliment L750.

**Tableau 2** - Addition programmée (1), mesurée (2), réellement ajoutée (3) des phytases (U<sup>(a)</sup>/kg) aux régimes alimentaires et % de la cible (4). A - Contrôle 0 U/kg, B - C250, C - C500, D - N500 et E - L750

|   | A                    | B      | C     | D      | E      |
|---|----------------------|--------|-------|--------|--------|
| 1 | 0                    | 250    | 500   | 500    | 750    |
| 2 | 183±3 <sup>(1)</sup> | 432±58 | 702±1 | 773±62 | 897±54 |
| 3 | 0                    | 249    | 519   | 590    | 714    |
| 4 | -                    | 100    | 104   | 118    | 95     |

<sup>(a)</sup> Quantité de l'enzyme qui libère 1  $\mu$ mole de phosphate inorganique par minute à partir de 0,005 moles par litre de phytate de sodium à pH 5,5 et à 37°C ;

<sup>(1)</sup> Moyenne  $\pm$  écart-type de 2 déterminations.

**Tableau 3** - Effets des phytases sur la concentration fécale (% de la matière sèche) du P et du Ca chez le porc en croissance. A - Contrôle 0 U/kg, B - C250, C - C500, D - N500 et E - L750

| A                             | B                         | C                         | D                         | E                          |
|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| <b>P</b>                      |                           |                           |                           |                            |
| 1,610±0,225 <sup>(1)a</sup>   | 1,303±0,140 <sup>bg</sup> | 1,223±0,171 <sup>bh</sup> | 1,238±0,146 <sup>bh</sup> | 1,267±0,171 <sup>bgh</sup> |
| (100)                         | (81)                      | (76)                      | (77)                      | (79)                       |
| <b>Ca</b>                     |                           |                           |                           |                            |
| 1,741±0,190 <sup>(1)acg</sup> | 1,571±0,335 <sup>eh</sup> | 1,490±0,332 <sup>df</sup> | 1,405±0,265 <sup>bf</sup> | 1,459±0,253 <sup>bf</sup>  |
| (100)                         | (90)                      | (86)                      | (81)                      | (84)                       |

Animaux : porcs en croissance ayant un poids vif initial de 32,2  $\pm$  2,47 kg ; Régime alimentaire à base de tourteau de soja, maïs, orge et avoine ;

<sup>(1)</sup> Moyenne  $\pm$  écart moyen de 10 déterminations ;

<sup>a, b, c</sup> Les valeurs suivies de lettres distinctes ont été statistiquement différentes : a - b P < 0,001, c - d et e - f P < 0,01, et g - h P < 0,05.

**Tableau 4** - Effets des phytases sur la digestibilité (% de l'ingéré) du P et du Ca chez le porc en croissance. A - Contrôle 0 U/kg, B - C250, C - C500, D - N500 and L - R750

| A                         | B                       | C                        | D                       | E                       |
|---------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>P</b>                  |                         |                          |                         |                         |
| 27,4±5,13 <sup>(1)a</sup> | 41,2±4,39 <sup>bc</sup> | 46±5,54 <sup>bd</sup>    | 45,7±5,13 <sup>bd</sup> | 45,3±4,59 <sup>bd</sup> |
| (100)                     | (150)                   | (168)                    | (167)                   | (166)                   |
| <b>Ca</b>                 |                         |                          |                         |                         |
| 57,6±4,26 <sup>(1)a</sup> | 63,8±6,96 <sup>be</sup> | 66,7±7,02 <sup>bef</sup> | 66,6±6,12 <sup>bf</sup> | 66±5,04 <sup>bef</sup>  |
| (100)                     | (111)                   | (116)                    | (116)                   | (115)                   |

Animaux : porcs en croissance ayant un poids vif initial de 32,2  $\pm$  2,47 kg ; Régime alimentaire à base de tourteau de soja, maïs, orge et avoine ;

<sup>(1)</sup> Moyenne  $\pm$  écart moyen de 10 déterminations ;

<sup>a, b, c</sup> Les valeurs suivies de lettres distinctes ont été statistiquement différentes : a - b P < 0,001, c - d P < 0,01 et e - f P < 0,05.

Les animaux ont grandi normalement pendant la période d'observation. Leur gain moyen quotidien a été de 615  $\pm$  59 g. De plus, ils n'ont présenté aucun symptôme de maladie ni de toxicose pendant l'expérience.

La concentration fécale moyenne en P pendant les phases où les animaux ont reçu des suppléments en phytases était très inférieure à celle mesurée pour les phases d'ingestion du régime alimentaire contrôle (Tableau 3). L'effet positif était statistiquement significatif pour les trois phytases. L'effet significativement le plus faible a été observé pour C250.

La concentration fécale en Ca pendant l'ingestion des régimes alimentaires additionnés de phytase était statistiquement plus faible que celle notée pendant l'ingestion du régime alimentaire contrôle (Tableau 3).

La digestibilité du P a été significativement plus élevée pendant les phases d'ingestion de suppléments des trois phytases que pendant l'ingestion du régime alimentaire non supplémenté (Tableau 4). La digestibilité du P a été augmentée de 13,8, 18,6, 18,3 et 17,9 unités respectivement par C250, C500, N500 et L750. En pourcentage par rapport au contrôle, la digestibilité du P a été améliorée de 50 %, 68 %, 67 % et 66 % respectivement par C250, C500, N500 et L750. L'effet significativement le plus faible a été observé pour C250.

Les équivalences en P des phytases, définies comme le P supplémentaire digéré par rapport au contrôle non supplémenté, ont été de 0,4922, 0,7323, 0,6784 et 0,6779 g de P par kg d'aliment respectivement pour C250, C500, N500 et L750.

L'excrétion fécale de P calculée pendant les périodes d'apport en phytase exogène a représenté 79 %, 75 %, 74 % et 75 % de celle de la période contrôle respectivement pour C250, C500, N500 et L750.

La digestibilité du Ca a aussi été significativement augmentée par les phytases (Tableau 4). L'augmentation a été très similaire pour C500, N500 et L750. L'amélioration la plus faible a été notée pour C250. La différence était statistiquement significative par rapport à N500.

## CONCLUSION

Il est possible de conclure que les 3 phytases ont amélioré la digestibilité du P et du Ca et réduit l'excrétion fécale de P

chez le porc en croissance nourri avec un régime alimentaire contenant du P exclusivement d'origine végétale.

L'effet de la phytase de *E. coli* au taux de 250 U/kg sur la digestibilité du P a été significativement inférieur à ceux des phytases de *A. niger* et de *P. lycii* aux doses recommandées. Les effets obtenus avec une dose de 500 U/kg de la phytase de *E. coli* ont été très similaires à ceux induits par les 2 autres phytases administrées aux doses recommandées.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient C. Portier, N. Kurtz, A. Hutkowski, P. Robin et J.Y. Drion pour leur contribution technique à la réalisation des différentes expériences sur les phytases conduites au CRNA.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Association of Official Analytical Chemists, 1990. Official methods of analysis. 15<sup>th</sup> edition, Association of Official Analytical Chemists, Arlington.
- Henry Y., Perez J.M., Sève B., 1989. In: L'alimentation des animaux domestiques - porc, lapin, volailles (ed. INRA), 2<sup>ème</sup> édition, INRA, Paris, 49-76.
- Jongbloed A.W., Mroz Z., Van der Weij-Jongbloed R., Kemme P.A., 2000. The effects of microbial phytase, organic acids and their interaction in diets for growing pigs. *Livest. Prod. Sci.*, 67, 113-122.
- NRC, 1998. Nutrient requirements of swine, 10<sup>th</sup> revised edition, National Academic Press, Washington.
- Simões Nunes, 1993. Effets zootechniques et biochimiques de l'addition de phytase au régime alimentaire du porc. *Journées de la Recherche Porcine en France*, 25, 229-232.
- Simões Nunes C., Guggenbuhl P., 1998. Effects of *Aspergillus fumigatus* phytase on phosphorus digestibility, phosphorus excretion, bone strength and performance in pigs. *Reprod. Nut. Dev.*, 38, 429-440.
- Simons P.C.M., Versteegh H.A.J., Jongbloed A.W., Kemme P.A., Slump P., Bos K.D., Volters M.G.E., Beuteker R.F., Verschoor G.J., 1990. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. *Br. J. Nutr.*, 64, 525-540.
- Snedecor G.W., Cochran W.G., 1989. *Statistical methods*, 8<sup>th</sup> edition, Iowa University Press, Ames.
- Statistical Analysis Systems, 1990. *SAS/STAT User's Guide: Statistics Release 6.04*, SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Zhang Z.B., Kornegay E.T., Radcliffe J.S., Wilson J.H., Veit H.P., 2000. Comparison of phytase from genetically engineered *Aspergillus* and canola in weanling pig diets. *J. Anim. Sci.*, 78, 2868-2878.