

Prédiction in vitro de la fraction de phosphore digestible dans les aliments pour porcs

D. Roulin, A. Gutzwiller, H.-D. Hess et S. Ampuero

Station Fédérale de Recherche Agroscope Liebefeld-Postieux (ALP), CH-1725 Postieux

Introduction

Le système digestif des organismes monogastriques, tels le porc, manquent d'enzyme phytase nécessaire à la digestion de l'acide phytique (myo-inositol hexakisphosphate, figure 1). De ce fait, seuls 10 à 50 % du phosphore (P) présent dans les aliments d'origine végétale sont digestibles (Liu et al., 1997, 1998). En effet, la majeure partie du P se trouve sous forme d'acide phytique. Afin de suppléer aux besoins en P des porcs, des suppléments de P minéral et / ou de phytase d'origine microbienne, sont usuellement administrés. L'évaluation in vitro de la fraction digestible dans les aliments pour porcs permettrait de combler de manière peu coûteuse les lacunes concernant le phosphore digestible dans des aliments pour lesquels il n'existe pas de résultat d'essai de digestibilité in vivo. Dans ce but, Liu et al. (1997, 1998) proposent une méthode in vitro pour l'évaluation du P digestible. Cette méthode imite les digestions dans l'estomac, puis dans les intestins du porc. D'après les auteurs, la procédure in vitro est hautement corrélée ($r = 0.999$) avec la digestibilité in vivo du P pour une diète composée de maïs et de farine de soja (Liu et al., 1997). Cette corrélation atteint 0.72 à 0.76 lorsqu'il s'agit de mettre en relation la fraction de P digestible des divers aliments (matières premières) avec des fractions de P digestible in vivo (Liu et al., 1998). La présente étude cherche à vérifier l'efficacité de la méthode in vitro pour l'évaluation du P digestible dans des aliments pour porcs.



Figure 1: Myo-Inositol Hexakisphosphate

Matériel et Méthodes

Aliments. Cinq échantillons de graines (soja, blé, maïs, orge, avoine), de la luzerne et de la poudre de petit lait, moulus à 1 mm, ont été testés.

Enzymes. Pepsine porcine (P6887, EC 3.4.23.1) et pancréatine porcine (P7545, activité 8 USP) de Sigma Aldrich Chemie S.A.R.L., Epalinges, Suisse. Phytase *Aspergillus niger*, Natuphos® (EC

3.1.3.8, activité mesurée : 7000 U/g) de BASF, Wädenswil, Suisse.

Détermination d'ortho-phosphate. Le phosphate sous forme de phosphate a été déterminé par photométrie à 415 nm en formant un complexe phospho-molybdo-vanadique de couleur jaune intense en milieu nitrique, basé sur la publication d'Engelen et al. (1994).

Détermination du phosphate total. Le phosphate total a été déterminé par la calcination de 2 g d'échantillon, suivie de la digestion des cendres dans le l'acide nitrique. Finalement, la détection s'est faite par ICP-OES (ICP-OES Optima 2000, de Perkin-Elmer AG, Schwerzenbach, Suisse).

Digestion in vitro. La fraction de phosphate digestible a été déterminée selon la procédure décrite par Liu et al., (1997). Un échantillon de 0.5 g a été mélangé avec 1 mL de solution HCl 0.18 N contenant un total de 1500 unités de pepsine dans une seringue de 5 mL (pH \approx 2.5). Ce mélange a été incubé à 39 °C pendant 75 minutes. Après cette digestion peptidique a lieu une digestion pancréatique. Pour cela, 0.325 mL de solution NaHCO_3 1 M contenant 3.7 mg/mL de pancréatine a été ajouté dans la seringue. Le mélange a ensuite été transféré dans un segment de membrane de dialyse (seuil de coupure théorique en poids moléculaire = 12400 g/mol, diamètre 15 mm, Sigma-Aldrich). Le segment a été placé dans 100 mL de tampon succinate 0.05 M pH 6.0 contenant 0.1 M de NaCl et 0.02 % de NaN_3 et incubé à 39 °C pendant 4 heures. L'ortho-phosphate ainsi que le P total ont été déterminés dans la fraction dialysée. Les résidus, avec la membrane correspondante, ont été analysés après dialyse pour leur teneur en P total résiduel.

Digestion in vitro en présence d'un supplément de phytase. Une prise de 0.5 g d'échantillon a été mélangée avec 1 mL de solution contenant 0.5 U/mL de phytase Nauphos dans du tampon succinate (1000 U/kg d'échantillon). Le mélange a été incubé à 39 °C pendant 60 minutes, puis a été soumis à la procédure de digestion in vitro.

Résultats et discussion

Les fractions de phosphate digestible, moyennes d'au moins 8 répétitions, montrent des différences avec les valeurs de la littérature (Liu et al., 1998) allant de -1.8 à -5.4 % (figure 2) ; à l'exception de l'avoine (-12.2 %) et de la luzerne (+40 %). Une raison probable à ces différences réside dans les différences botaniques des échantillons utilisés dans les différents essais. À la différence des valeurs trouvées par Liu et al. (1998) pour la fraction du P disponible dans la luzerne, 57%, la valeur trouvée lors de cette étude est de 97 %. Cette valeur correspond à celle attendue pour une matière première qui ne contient pas d'acide phytique, 100 % (Nelson et al., 1968). Cette valeur élevée est aussi confirmée par les essais in vivo, 100% (Liu et al., 1998).

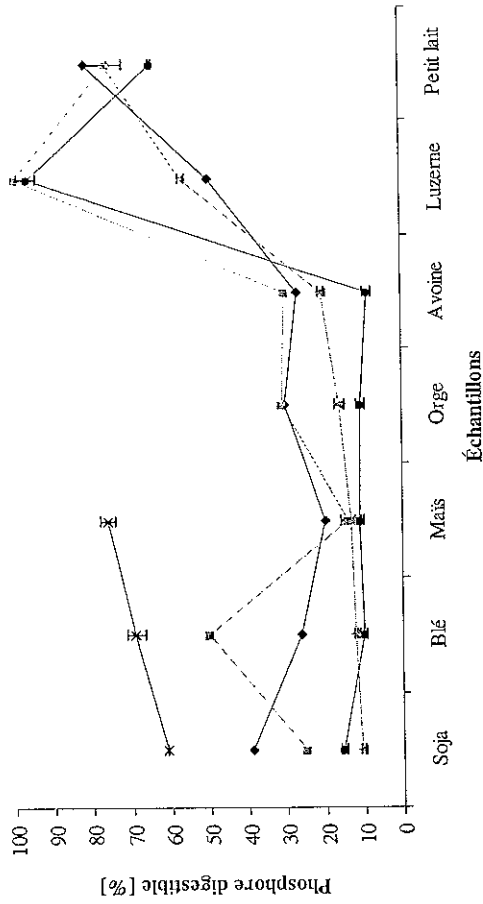


Figure 2: Phosphate digestible, chaque moyenne (barre d'erreur = \pm déviation standard) représente au moins 8 répétitions. ● Digestion in vitro (essais ALP), ▲ Digestion in vitro (Liu et al., 1998), ◆ Digestion in vitro (Liu et al., 1998), × Digestion in vitro (Stoll et al., 2005). × Digestion in vitro avec ajout de phytase microbienne 1000 U/kg (essais ALP).

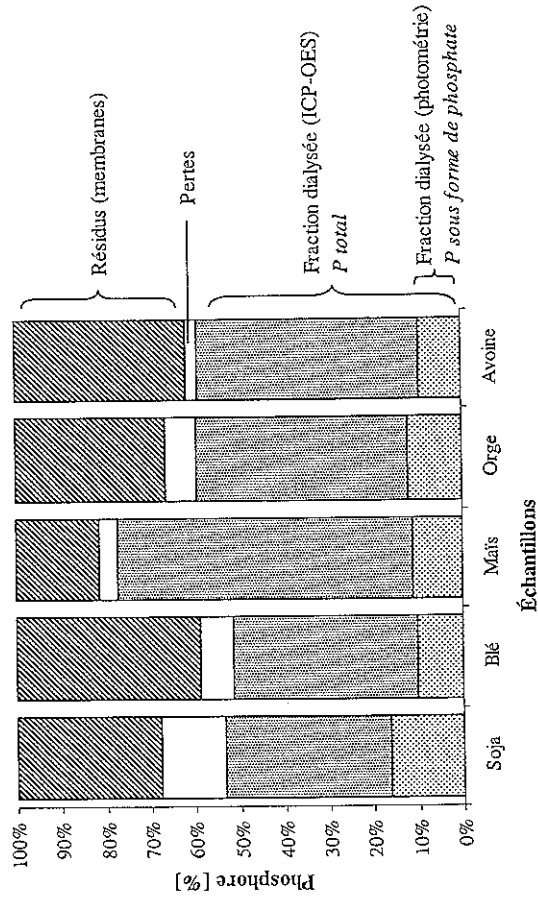


Figure 3: Bilan du processus in vitro (essai ALP)

Une différence importante entre les valeurs in vivo est observable dans le cas de la luzerne, le blé, le soja et le petit lait. Ces différences peuvent avoir différentes causes comme p. ex. différents taux de

phytase native, différentes fractions de P sous forme d'acide phytique selon les variétés des espèces botaniques, ainsi que les différences entre les diverses méthodes de détermination in vivo.

L'analyse du P total dans la fraction dialysée (figure 3) montre des teneurs en P significativement plus élevées que les teneurs sous forme d'ortho-phosphate. Ceci s'explique probablement par la présence en solution des produits intermédiaires de l'hydrolyse de l'acide phytique. En effet, différents auteurs décrivent la déphosphorylation enzymatique de l'acide phytique en étapes successives, avec l'apparition de différents complexes avec 5, 4, 3, 2 et 1 phosphates (Greiner et al., 2002). Ainsi, la spéciation de la fraction dialysée serait souhaitable afin de déterminer si des complexes intermédiaires à bas degré de complexation sont susceptibles d'être absorbés dans l'intestin grêle.

Finalement, l'adjonction de phytase microbienne promet fortement la disponibilité du P présent (figure 2). Ainsi, un ajout de 1000 U/kg de phytase provoque une fraction de P digestible entre 61 et 76 % du P présent (soja, blé et maïs). L'adjonction de 10000 U/kg ne donne pas des fractions de P digestible significativement plus élevées (résultats non publiés).

Le procédé in vitro testé ici a le potentiel de donner des indications sur la fraction de P digestible dans les matières premières, et notamment réagit positivement à l'adjonction d'enzyme phytase. Cependant, l'étude approfondie de la fraction dialysée peut s'avérer nécessaire. Il serait aussi souhaitable d'établir ce processus avec des essais in vivo conduits avec les mêmes aliments, évitant ainsi des artefacts dus aux différences botaniques entre variétés.

Littérature

- Liu, J., Ledoux, D.R. and Veum, T.L. (1997): In Vitro Procedure for Predicting the Enzymatic Dephosphorylation of Phytate in Corn-Soybean Meal Diets for Growing Swine. *J. Agric. Food Chem.* **45**: 2612-2617
- Liu, J., Ledoux, D.R. and Veum, T.L. (1998): In Vitro Prediction of Phosphorus Availability in Feed Ingredients for Swine. *J. Agric. Food Chem.* **46**: 2678-2681
- Stoll, P., Kessler, J., Gutzwiller, A., Bee, G., Chaubert, C. et Gafner, J.-L. (2005): Apports alimentaires recommandés et tables de la valeur nutritive des aliments pour porcs (Livre Jaune). Station de recherche en production animale et laitière (ALP), Posieux, Suisse: 216-228
- Engelen, A.J., Van der Heeft, F.C., Randsdorp, P.H.G. and Smit, E.L.C. (1994): Simple and Rapid Determination of Phytase Activity. *J. AOAC Int.* **77**: 760-764
- Nelson, T.S., Ferrara, T.R., Storer, N.L. (1968): Phytate phosphorus content of feed ingredients derived from plants. *Poult. Sci.* **47**: 1372-1374
- Greiner, R., Farouk, A., Larsson, Alminger, M. and Carlsson, N.-G. (2002): The pathway of dephosphorylation of myo-inositol hexakisphosphate by phytate-degrading enzymes of different *Bacillus* spp. *Can. J. Microbiol.* **48**: 986-994.