

UNE NOUVELLE SOLUTION ENZYMATIQUE QUI AMELIORE LA DIGESTIBILITE GLOBALE DE L'ALIMENTS

Cozannet Pierre, Montanhini Neto Roberto, Bourgueil Elisabeth, Preynat Aurelie

ADISSEO France SAS – CERN, 6 route Noire, 03600 MALICORNE
Aurelie.Preynat@adisseo.com

RÉSUMÉ

Le but de l'étude est de valider l'amélioration globale de la digestibilité de l'aliment obtenue par l'addition d'une nouvelle solution enzymatique enrichie en xylanases et arabinofuranosidases (Enz ; Rovabio® Advance). Un régime base blé – tourteau de soja a été utilisé tel quel (100%) ou dilué par 3% de sable (97%). La digestibilité et la teneur en éléments digestibles de ces deux régimes avec et sans Enz a été mesurée. L'essai *in vivo* a été réalisé sur des poulets en croissance (12 à 22 jours) avec mesure de la digestibilité de la matière sèche, de l'énergie et digestibilité iléale des AA entre 19 et 22 jours d'âge. Les données ont été traitées par analyse de variance avec effet régime (n=2) et effet enzyme (n=2).

Aucune différence d'ingestion n'a été observée entre les régimes. Au niveau fécal, la digestibilité de l'énergie a été équivalente pour les régimes témoins (P=0,99) standard ou dilué. La teneur en énergie métabolisable apparente (EMA) des deux régimes diffère de 3% (3 286 vs. 3 189 kcal/kg MS ; P<0,001). L'incorporation de la solution enzymatique a permis l'amélioration de l'utilisation de l'énergie quel que soit le régime (2,8% ; 73,3 vs. 75,4% ; P<0,001), soit une amélioration de l'EMA de +97 kcal/kg MS. Les teneurs EMA du régime formulé à 97% avec l'addition d'Enz et celle du régime témoin à 100% sont non significativement différentes (P=0,98). Au niveau iléal, la digestibilité des AA a été équivalente entre les régimes, en moyenne de 75%. L'ajout d'une solution Enz a amélioré la digestibilité de tous les AA de 4,4% en moyenne (P<0,001).

Ces résultats valident que cette solution enzymatique enrichie en xylanases et arabinofuranosidases a un effet global sur la digestibilité de la matière organique, c'est pourquoi il est important de prendre en compte l'énergie mais aussi les AA libérés dans la reformulation des régimes lors de l'emploi de cette nouvelle solution enzymatique.

ABSTRACT

New Enzyme solution which improves the overall feed digestibility

The aim of this study was to validate the improvement of the global feed digestibility with the use of a new enzyme solution enriched in xylanases and arabinofuranosidases (Enz; Rovabio® Advance). A standard diet based on wheat and soybean meal was used as is (100%) or diluted with 3% sand (97%). Digestibility and content of digestive nutrients of these two diets with or without Enzymes was measured. *In vivo* trial has been set up with growing broilers (12 to 22 days), and dry matter and energy digestibility at fecal level and amino acid digestibility at ileal level were measured between 19 and 22 days of age. Data were subjected to ANOVA with block (n=15), diet (n=2) and Enzyme (n=2) as fixed effects.

No difference on feed intake was observed between diets. At fecal level, energy digestibility was similar around 73.3% for both 100% and 97% control diets (P=0.99). However, the apparent metabolizable energy content (AME) was significantly reduced in diluted control diet by 3% (3,286 vs. 3,189 kcal/kg DM; P<0.001). The Enz solution improved energy utilization (+2.8%; 73.3 vs. 75.4%; P<0.001) in both diets (with or without sand), thus leading to increase AME content by 97 kcal/kg DM. Consequently, no difference between AME content of sand diluted diet with Enz and control diet without sand was observed (P=0.98). At ileal level, AA digestibility was similar in all treatments around 75%. The addition of the Enz solution increased AA digestibility by 4.4% on average (P<0.001).

These results suggest that the Enz solution enriched in xylanases and arabinofuranosidases has an overall effect on organic matter. It is thus important when reformulating diets with such an enzyme solution to take into account not only the energy but also digestible AA.

INTRODUCTION

Le bénéfice de l'emploi d'enzyme dans les régimes des monogastriques et particulièrement des volailles est établi depuis longtemps (Campbell and Bedford 1992). Cependant, la valeur des enzymes est souvent seulement exprimée au travers d'une libération supplémentaire d'énergie. L'énergie n'est pas un nutriment mais la somme de l'énergie apportée par l'amidon, les protéines, les matières grasses et les fibres. Il a été montré au cours d'une précédente étude que l'énergie supplémentaire libérée par l'ajout nouvelle solution enzymatique (Enz) enrichie en xylanases et arabinofuranosidases provient de l'amélioration de la digestibilité de l'ensemble des nutriments de l'aliment (Cozannet et al., 2016 *in press*). La vision donnée par l'amélioration de la valeur énergétique en présence d'une telle solution enzymatique est donc partielle. Il est notamment particulièrement intéressant de considérer aussi l'amélioration de la digestibilité des acides aminés (AA). La validation de l'effet d'Enz sur la digestibilité globale de l'aliment a été mesurée dans cette étude par dilution de l'aliment avec un composé inerte, du sable. Cette dilution globale permet d'estimer l'effet de l'Enzyme sur l'ensemble des composants de la matière organique.

L'objectif de cette étude a donc été d'évaluer l'impact de la dilution du régime avec un élément inerte sur la digestibilité de l'énergie brute et des AA et la teneur en éléments digestibles en présence ou non d'une solution enzymatique enrichie en xylanases et arbinofuranosidases.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Essais *in vivo*

Pour cet essai, 120 poulets Ross PM3 ont été sélectionnés sur la base du poids vif à l'âge de 12 jours. Les animaux sont répartis en cage individuelle selon un plan factoriel en bloc 2 x 2. Ce dispositif permet l'étude de l'effet de la dilution et de l'incorporation d'Enzyme. Par conséquent, deux aliments granulés ont été fabriqués. Leur composition est présentée dans le Tableau 1. Les régimes ont ensuite été traités par pulvérisation avec de l'eau ou une solution Enz (Rovabio® Advance L, Adisseo). Cette solution de type carbohydrase est issue de la fermentation de *Talaromyces versatilis* et fournit par kilogramme d'aliment 1 250 unités viscosité d'activité endo- β -1,4-xylanase, 9 250 unités viscosité d'activité arabinofuranosidase et 860 unités d'activité endo-1,3(4)- β -glucanase à la dose recommandée de 200 mL/T. La période expérimentale est divisée en trois phases successives, une première d'adaptation (10 jours) et une seconde de collecte (3 jours). Le bilan digestif est réalisé par collecte totale des excréta et suivi individuel des consommations. Les fientes

congelées immédiatement après collecte journalière sont ensuite lyophilisées et broyées pour analyse. Après les 3 jours de collecte les animaux ont été réalimentés pour la troisième phase (4 jours) avant euthanasie et collecte des contenus iléaux rassemblés par groupe de 5 animaux pour l'évaluation de la digestibilité des acides aminés par marqueur (oxyde de titane). Les premiers deux tiers de l'iléon ont été prélevés.

La mesure de la teneur des fientes et des aliments en énergie brute et la différence entre l'énergie ingérée et l'énergie excrétée permettent d'aboutir dans un premier temps aux valeurs d'énergie métabolisable apparente (EMA). Afin de permettre une comparaison entre des animaux ayant éventuellement des différences de croissance, les valeurs d'énergie métabolisable à bilan azoté nul (EMAN) ont été calculées à partir du bilan azoté par le biais du gain de poids selon l'équation proposée par Lessire (2004). De la même façon, l'évaluation de la digestibilité iléale apparente des AA est permise par la mesure de la teneur en AA et en marqueur des aliments et des contenus iléaux.

1.2. Analyses de laboratoire

Dans un premier temps, les teneurs en matière sèche (MS), matières minérales (NF V18-101) et énergie brute (EB) (ISO 9831) ont été mesurées sur les aliments et les excréta. Le profil en AA des régimes a été déterminé selon la directive 98/64/CE (Norme NF EN ISO 13903) pour les aliments. Les mêmes analyses ont été réalisées sur les excréta.

1.3. Calculs et statistiques

Les effets de la dilution du régime par du sable (2 modalités), de l'ajout d'Enz (2 modalités) et de l'interaction entre l'aliment et l'incorporation d'Enz sur les paramètres animaux, le rapport EMAN/EB, la digestibilité iléale des AA et la teneur EMAN des régimes ont été testés par analyse de variance des données individuelles.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de performance et de métabolisabilité moyens obtenus par régime sont synthétisés dans le Tableau 2. L'ingestion des animaux n'a pas été modifiée par l'ajout de sable dans les régimes ($P = 0,616$). Les performances (i.e. gain de poids et efficacité alimentaire) des animaux au cours de la période complète de l'essai sont significativement affectées par la nature des régimes ($P = 0,013$). Ces différences de performances peuvent être reliées à la composition en nutriments des régimes. L'indice observé pour le régime dilué sans Enz est 4,6% supérieur au régime standard. La différence correspondante observée est de 3% pour les poids finaux.

Les données de digestibilité de la MS entre le régime standard et le régime dilué sont statistiquement différentes. Cette différence est liée à la présence de sable contribuant à la MS du régime. La différence entre le régime standard et le régime dilué est de 2.3 points correspondant au 3.0 points de sable inclus dans le régime standard. Les données de digestibilité pour les autres paramètres à l'exception de la méthionine sont non statistiquement différentes ($P > 0,11$) entre le régime standard et le régime dilué. Ces données sont conformes aux attentes : elles suggèrent le faible effet du sable sur la digestibilité des régimes. La digestibilité fécale de l'énergie et de la matière sèche est améliorée à hauteur de 2,8% (2.0 points) en moyenne par l'ajout d'Enz. Cet effet compense l'effet négatif de l'inclusion de sable sur ces mêmes paramètres. Aucune interaction n'est observable entre le type de régime et l'effet de l'Enz ($P = 0.705$). Ces données sont comparables à des données observées précédemment (Cozannet et al., 2016 *in press*). Elles suggèrent l'amélioration globale de la digestibilité des nutriments (Wu et al., 2004).

Les Enz ont un effet bénéfique sur la digestibilité de l'ensemble des AA, de la matière sèche et de l'énergie ($P < 0,001$). Les différences d'effet de l'Enz sur l'un et l'autre des régimes sont non statistiquement différentes. Les améliorations par AA sont également non différentes (données non présentées). Ces données varient de 5.2 à 2.6 points. Il peut donc être considéré que le profil de digestibilité des AA du régime augmente de façon identique (Figure 1). Cette analyse diffère de celle réalisée par Cowieson et al. (2010) qui suggèrent une corrélation négative entre la digestibilité des AA et l'impact des Enz ($R^2=0.50$; $P < 0.001$). Il est plus satisfaisant de considérer une augmentation similaire de la digestibilité de tous les AA ($R^2=0.78$; $P < 0.001$). Dans ce cas, la digestibilité des AA est augmentée de 4,4% en moyenne. Ces observations sont conformes à des données rapportées dans la littérature lors de l'emploi de carbohydrases (Mussini et al., 2012) ou de protéases (Angel et al., 2011 et Barekatin et al., 2013). Il est aussi possible de considérer l'amélioration relativement à la fraction indigestible qui devient constante. Cette valeur est en moyenne (min-max) de 13.3% (11.4-16.3).

L'amélioration de la digestibilité iléale et fécale observée sur le régime dilué par l'ajout d'Enz permet

de compenser l'inclusion de sable. Par conséquent, la teneur en AA digestibles et la teneur en AME du régime dilué supplémenté d'Enz est équivalent à celles du régime standard sans Enz ($P > 0.85$).

Les effets sont liés à la dégradation des fibres ayant un effet négatif sur la digestibilité de l'ensemble des nutriments. Les observations faites dans cette étude sont liées à l'amélioration de l'accessibilité des nutriments par les Enzymes incluses dans cette nouvelle solution enzymatique (Rovabio® Advance). L'exemple donné de la digestibilité iléale des AA a également été appliqué à la digestibilité fécale de l'amidon et des matières grasses et de l'azote (Cozannet et al, 2016 *in press*) montrant une amélioration significative de la digestibilité fécale de 3.0, 3.3, 3.2, 3.0, 6.2, 2.9, 5.8, et 3.8 points pour la matière sèche, la matière organique, l'azote, les matières grasses et l'énergie brute, respectivement.

Cette amélioration globale de la digestibilité de l'aliment est à mettre en relation avec l'amélioration des activités xylanases et arabinofuranosidases du produit. Les activités arabinofuranosidases permettent le débranchement des arabinoses du squelette xylose libérant de l'espace pour l'action de la xylanase (De la Mare et al., 2013). Ces activités permettent une dégradation efficace du maillage en arabinoxyle. L'énergie résultant de la dégradation des fibres semble donc marginale, c'est l'amélioration de l'accessibilité des enzymes endogènes de l'animal aux nutriments du régime qui rend compte de l'amélioration globale de la digestibilité de l'aliment.

CONCLUSION

Les données rapportées par cet essai suggèrent l'importance de l'impact de l'Enz sur la digestibilité de l'ensemble des nutriments. Au travers de l'exemple de la digestibilité iléale des AA et fécale de l'énergie, on observe ici l'efficacité équivalente de cette nouvelle solution enzymatique sur la digestibilité de tous les nutriments. L'extraction du plein potentiel d'une telle solution enzymatique nécessite par conséquent de repenser la formulation de l'aliment en prenant en compte au minimum l'énergie et les acides aminés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Angel C.R., 2011. *Poult. Sci.*, (90), 2281-2286.
Barekatin M.R., 2016. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, (182), 71-81
Campbell G.L., 1992. *Can. J. Anim. Sci.* (72), 449-466
Cowieson A., 2010. *J. Poult. Sci.* (47), 1-7
Cozannet P., 2016. *Poult. Sci In press*
De la Mare M., 2013. *Enz Microb. Techno.* (53), 351-358.
Leeson S., 1996. *Poult. Sci.* (75), 529-535
Lessire M., 2004 In *Tables of composition and nutritive value of feed materials. Pigs, poultry, cattle, sheep, goats, rabbits, horses, fish.* INRA Editions, Versailles, France, 25-35.
Mussini F.J., 2012 *Int. J. Poult. Sci.* (10) 774-777.

Tableau 1. Composition des régimes

Régime	Standard	Dilué
Ingredient (%)		
Blé	57,72	55,99
Graine de soja extrudé	7,5	7,27
Tourteau de soja	24,4	23,67
Huile végétale	5,75	5,58
Phosphate bicalcique	1,27	1,23
Carbonate	1,18	1,14
Sel	0,27	0,27
Sulfate de sodium	0,14	0,14
DL-Méthionine	0,32	0,31
L-Lysine	0,26	0,25
L-Thréonine	0,08	0,08
Sable	-	2,96
Premix ¹	0,6	0,6
Oxyde de titane	0,5	0,5
Teneur en nutriments		
MS, %	89,3	89,5
EMA, kcal/kg	3010	2919
MAT, %	20,2	19,6
MG, %	8,5	8,2
NDF, %	11,0	10,6
Lysine digestible, %	1,12	1,08
AA soufrés digestible, %	0,87	0,84

¹ Premix apporte par kg d'aliment : vitamine A, 12,000 IU; vitamine D3, 3,000 IU; vitamine E, 100 IU, vitamine K3, 3 mg; vitamine B1, 2 mg; vitamine B2, 8 mg; vitamine B6, 3 mg; vitamine B12, 0.02 mg; acide folique, 1 mg; biotine, 0.2 mg; acide pantothénique, 15 mg; niacine, 40 mg; Mn, 80 mg; Zn, 60 mg; I, 1 mg; Fe, 80 mg; Cu, 15 mg; Co, 0.4 mg; Se, 0.2 mg; ethoxyquine, 0.5 mg; BHA, 0.5 mg; narasine+nicarbazine, 80 mg.

Figure 1. Comparaison des digestibilités iléales des acides aminés avec et sans Enzyme tous régimes confondus.



Tableau 2. Effet des régimes et de l'ajout d'Enzymes sur les performances et la digestibilité iléale et fécale des nutriments

Régime Enzyme ²	Standard		Dilué		Statistiques ¹				R ²	Ecart- type
	0	1	0	1	Bloc	Régime	Enzyme ²	Interaction		
Performances poulets (de 12 à 22 jours)										
Poids, g										
Initial (12d)	285 a	282 a	284 a	282 a	< 0,001	0,873	0,229	0,861	0,77	12
Final (22d)	760 a	754 a	738 b	733 b	< 0,001	0,013	0,492	0,939	0,57	46
Ingéré, g	805 a	785 a	804 a	798 a	0,014	0,616	0,310	0,576	0,39	69
Indice	1,695 b	1,668 b	1,773 a	1,773 a	0,743	< 0,001	0,391	0,392	0,41	0,084
Période de collecte (de 19 à 22 jours)										
Animal spécification, g										
MS ingérée	245 a	235 a	241 a	235 a	0,002	0,594	0,047	0,689	0,45	22
Poids vif collecte (19d)	587 a	583 a	576 a	575 a	< 0,001	0,165	0,693	0,805	0,57	35
Digestibilité iléale, %										
Cys	68,4 b	74,0 a	67,9 b	72,7 a		0,200	< 0,001	0,126	0,24	4.1
His	77,6 ab	79,8 a	75,6 b	80,0 a		0,192	< 0,001	0,111	0,20	3.7
Iso	76,6 ab	78,8 a	74,7 b	79,3 a		0,404	< 0,001	0,148	0,15	4.4
Leu	76,7 ab	78,5 a	74,7 b	79,0 a		0,320	0,000	0,123	0,14	4.2
Lys	81,6 bc	83,3 ab	80,2 c	83,7 a		0,349	< 0,001	0,118	0,18	3.0
Met	79,0 a	80,5 a	75,7 b	80,0 a		0,020	0,001	0,105	0,15	4.5
Phe	78,8 ab	80,7 a	77,0 b	80,8 a		0,231	0,000	0,199	0,14	3.8
Thr	72,7 a	74,2 a	69,6 b	74,7 a		0,117	< 0,001	0,029	0,17	4.3
Val	72,9 ab	75,0 a	70,5 b	75,1 a		0,186	0,000	0,143	0,14	4.7
Digestibilité fécale, %										
Matière sèche	68,7 b	70,8 a	66,5 c	68,3 b	0,636	< 0,001	< 0,001	0,705	0,51	2.1
AME/GE	73,4 b	75,4 a	73,3 b	75,4 a	0,597	0,990	< 0,001	0,973	0,35	2.6
Teneur en énergie, kcal/kg DM										
AME	3 453 b	3 551 a	3 348 c	3 444 b	0,591	< 0,001	< 0,001	0,976	0,45	122
AMEn	3 286 b	3 379 a	3 189 c	3 283 b	0,595	< 0,001	< 0,001	0,985	0,44	116

Les valeurs sont des moyennes de n=30 observations à l'exception des digestibilités iléales des acides aminés (n=6)

^{a,b} Moyennes présentant une lettre différente sont significativement différentes ($P < 0.05$) par le test de Tukey

¹ Analyse de variance des données de performance et de digestibilité fécale (n=120) avec les effets fixes bloc (n=30), Enzyme (n=2), régime (n=2) et l'interaction (n=4) ; et des données de digestibilité iléale (n=24) avec les effets fixes Enzyme (n=2), régime (n=2) et l'interaction (n=4).

² Enzyme = Rovabio® Advance L, 200 mL/T, Adisseo France S.A.S