

IMPACT DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'OXYDE DE ZINC SUR LA BIODISPONIBILITE DU ZINC EN POULET DE CHAIR

Cardoso Denise^{1,2,3}, Roméo Agathe³, Durosoy Stéphane³, Meme Nathalie²,
Chevalier Yves¹, Narcy Agnès²

¹Université Lyon 1, LAGEP, CNRS UMR 507, 69622 VILLEURBANNE

²UMR BOA, INRA, Université de Tours, F-37380 NOUZILLY

³Animine – 335 chemin du Noyer – 74330 SILLINGY

dcardoso@animine.eu

RÉSUMÉ

La biodisponibilité d'un oligoélément peut être liée à sa solubilité *in vivo*, qui dépend elle-même des caractéristiques physico-chimiques du produit. Néanmoins, le lien exact entre ces caractéristiques, la solubilité et la biodisponibilité des minéraux n'est pas encore pleinement élucidé. L'objectif de l'étude était d'évaluer la biodisponibilité de plusieurs sources d'oxyde de zinc (ZnO), qui présentaient des propriétés physico-chimiques différentes. Environ 40 échantillons de ZnO ont été analysés pour connaître leurs caractéristiques physico-chimiques. Une analyse en composantes principales a été réalisée pour déterminer les critères les plus pertinents et diviser les échantillons en plusieurs groupes. Des échantillons représentatifs de chaque famille ont été choisis pour un essai *in vivo* sur poulets de chair. 117 animaux étaient nourris avec un aliment standard de 1 à 7 jours. Le 8^{ème} jour, les poulets étaient placés en cages individuelles et recevaient l'un des traitements expérimentaux : contrôle négatif (23 ppm de Zn natif sans Zn ajouté) ou un aliment complété à raison de 6 ou 12 ppm de ZnO ou de sulfate de zinc (ZnSO₄). Les animaux étaient abattus les jours 22 et 23. La concentration de Zn dans l'os était retenue comme critère de biodisponibilité. Les biodisponibilités des sources testées variaient de 56 à 152% comparées à la biodisponibilité de ZnSO₄. La taille des agrégats semblait expliquer la grande variabilité des valeurs obtenues pour la biodisponibilité du Zn en poulet de chair. En conclusion, les propriétés physico-chimiques des sources de ZnO peuvent expliquer en partie la variabilité observée pour la biodisponibilité. D'autres recherches sont en cours pour déterminer des critères plus précis visant à prédire la biodisponibilité des sources de ZnO.

ABSTRACT

Physicochemical properties of ZnO correlated to their bioavailability in broilers

The bioavailability of a trace mineral source is related to its *in vivo* solubility, which in turn is determined by its physicochemical properties. It is still not clear which characteristics are more relevant in affecting solubility and bioavailability of feed compounds. Zinc oxide (ZnO) is a common feed additive used to supplement zinc in the diet of monogastric animals. However, different sources have shown different responses on animal bioavailability. This study hypothesized that different sources of feed grade ZnO have various physicochemical features that lead to distinct bioavailability values. Over 40 samples of ZnO have been collected from the feed industry worldwide. Samples were analyzed for density, tapped density, particle size, shape, specific surface area and dissolution kinetics. A principal component analysis (PCA) was performed to define the most relevant physicochemical characteristics and categorize the samples into groups. Representative products from each family were selected for *in vivo* trial to measure the effect of their characteristics on the zinc bioavailability in broilers. 117 animals were fed a standard starter diet from day 1 after hatching up to day 7. At day 8, animals were allocated in individual cages and fed one of each treatment. Treatments consisted of a basal diet with 23ppm of Zinc and diets with supplement zinc oxide or sulfate at 6 or 12 ppm. Animals were slaughtered at day 22 and 23. Bone zinc was used to analyze zinc availability. The bioavailability of the different sources varied from 56 to 152% from zinc sulfate. Aggregate size seems to explain a large variability in the bioavailability of the different sources tested in broilers. In conclusion, physicochemical properties of Zn oxide can partly explain the variability observed in terms of Zn biological value. Further work is needed to define precisely the most accurate set of predictors of Zn bioavailability.

INTRODUCTION

Le zinc (Zn) est un oligo-élément essentiel supplémenté à un maximum de 120 mg/kg dans les aliments complets destinés au poulet de chair. Le sulfate de Zn (ZnSO_4) et l'oxyde de Zn (ZnO) sont deux sources de Zn communément utilisées dans l'alimentation des monogastriques, mais leurs valeurs de biodisponibilité sont très variables (Edwards & Baker, 1999 ; Narcy, 2015) et aucune corrélation n'a pu être établie entre leur solubilité *in vitro* et leur biodisponibilité *in vivo* (Anwar, 2016). Une caractérisation plus fine de ces sources est donc requise pour permettre de prédire plus précisément leur biodisponibilité.

Dans ce but, des échantillons de ZnO ont été collectés sur le marché international de l'alimentation animale et leurs caractéristiques physico-chimiques ont été mesurées ; plusieurs de ces échantillons ont ensuite été testés sur le poulet de chair. L'objectif de l'étude était d'établir un lien entre les caractéristiques physico-chimiques des sources de ZnO et leur biodisponibilité pour les volailles.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Mesure des caractéristiques physico-chimiques

Les critères retenus pour caractériser les produits sont la granulométrie, l'aire de la surface spécifique, la densité apparente, la densité après tassement.

La taille des particules (agrégats et agglomérats) est mesurée par granulométrie laser par voie humide, en utilisant un instrument Malvern Mastersizer 3000. La détermination de l'aire de la surface spécifique (ASS) des poudres sèches est basée sur l'adsorption de l'azote, avec un instrument Tristar 3000 Micrometrics BET.

La densité apparente correspond à la masse par unité de volume. La densité après tassement est mesurée en utilisant un Tapped Density Tester ; le nombre de tassements est fixé en suivant les recommandations de l'Organisation Internationale de la Standardisation (ISO) : 250 ± 15 chutes. Le ratio Hausner (ratio entre densité apparente et densité après tassement) est ensuite calculé.

La cinétique de dissolution est réalisée à l'aide d'une burette automatique (877 Titrino plus, Metrohm, Suisse) ; la dissolution du Zn est estimée en fonction de la quantité d'acide délivrée par la burette

1.2. Animaux et design expérimental

L'essai *in vivo* est réalisé sur 117 poussins mâles (Cobb) âgés d'un jour. Les animaux sont pesés, répartis dans des cages et nourris avec un aliment standard jusqu'au 7^e jour. Le 8^e jour, les poulets sont pesés à nouveau et répartis en cages individuelles à raison de 9 blocs. Ils reçoivent l'un des aliments expérimentaux pendant 14 ou 15 jours ; ces aliments

sont composés d'une base pauvre en zinc (23 ppm de Zn natif), supplémentée avec 6 ou 12 mg/kg de ZnSO_4 ou de ZnO (Tableau 1).

Tableau 1 : Aliments expérimentaux

Source de Zn supplémenté	Dose de Zn ajouté (mg/kg)	Zn analysé (mg/kg)
Aucune (base)	0	24,5
ZnSO_4	6	28,4
	12	34,5
HZ (HiZox®)	6	28,9
	12	34,5
ZnO-1	6	29,7
	12	36,6
ZnO-2	6	29,3
	12	33,6
ZnO-3	6	29,3
	12	33,1
ZnO-4	6	28,5
	12	35,4

Les niveaux de supplémentation ont été choisis en-deçà des besoins des poulets de chair, pour évaluer plus finement la biodisponibilité des différentes sources testées.

1.3. Analyses sur l'os

A J22 et J23, en fin d'essai, tous les animaux ont été abattus (9 par traitement) et leur tibia droit a été prélevé. Une partie des échantillons est immédiatement stockée dans de l'azote liquide (-80°C) en attendant des analyses complémentaires. L'autre partie est pesée puis placée au four à 103°C pendant 12h pour la mesure de matière sèche, puis à 500°C pour 6h pour la détermination du contenu en cendres. La teneur en Zn est ensuite analysée par ICP-AOS.

1.4. Contenus intestinaux

Les contenus du proventricule-gésier et de l'intestin grêle ont été collectés. Les matières sèches des contenus digestifs ont été mesurées après 4h à 104°C avant d'être incinérés (550°C , 8h). Les cendres des contenus ont ensuite été solubilisées dans l'acide nitrique 16N et le peroxyde d'hydrogène 30% sur un bain à sec jusqu'à évaporation, et finalement diluées dans l'acide nitrique 0,4N. La teneur en Zn est finalement analysée par ICP optique.

1.5. Analyses statistiques

L'analyse en composantes principales (ACP) est utilisée pour déterminer les caractéristiques physico-chimiques liées à la cinétique de dissolution.

La concentration de Zn osseux est analysée par la procédure ANOVA du logiciel de traitement statistique R. Une régression linéaire est effectuée entre la concentration de Zn dans le tibia et la consommation de Zn des poulets (Littel, 1997). Les

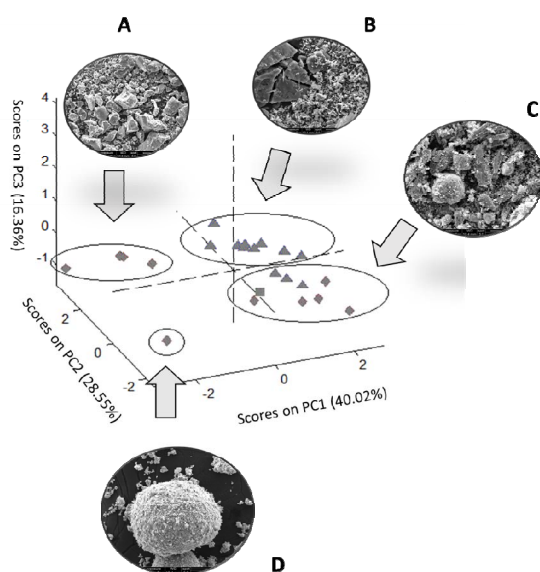
sources ont été discriminées à partir de l'estimation des intervalles de confiance.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Caractéristiques physico-chimiques

La caractérisation des échantillons de ZnO nous a permis de les répartir dans 4 groupes distincts (Figure 1).

Figure 1 : Division des échantillons en 4 groupes par ACP



Les familles A et B présentaient une grande amplitude pour la taille de leurs particules, alors que les familles C et D avaient une granulométrie plutôt homogène. Des agglomérats assez larges (100-300 μm) ont été observés dans le groupe D.

Les poudres comportent des particules primaires libres et des assemblages constituant des agglomérats et/ou des agrégats (Nichols et al., 2002). Les particules primaires peuvent correspondre à des cristaux simples ou à des cristaux composés de cristallites. Les agrégats et les agglomérats agissent comme des particules de grande taille avec une porosité interne (Borm et al., 2016). Les agrégats sont constitués de particules primaires liées solidement entre elles, en général au cours du processus de fabrication du proI amduit. Les agglomérats sont des assemblages plus lâches de particules primaires ou d'agrégats, qui peuvent être assez facilement brisés, contrairement aux agrégats (Balakrishnan et al., 2010 ; Borm et al., 2006 ; Nichols et al., 2002).

Le ZnO est majoritairement obtenu via trois procédés de fabrication. Les caractéristiques des ZnO produits par ces procédés peuvent être reliées aux 4 groupes de notre étude (Tableau 2).

Tableau 2 : Caractéristiques des sources de ZnO en fonction des procédés de fabrication

Méthode	Description de la méthode	Description du produit	Groupe
Directe	Oxydation du Zn métal	ASS entre 1 et 3 m^2/g	A
Indirecte	Réduction du minerai de Zn puis réoxydation	Particules primaires de 30 à 2000 nm, ASS de 3 à 12 m^2/g	B
Humide	Précipitation de l'oxyde d'une solution aqueuse suivie d'une calcination	Poreux, ASS très élevée	C, D

La cinétique de dissolution a montré une dissolution lente pour les échantillons du groupe A (moins de 50% du Zn dissolu après 60 minutes). Pour les groupes B et C, le même schéma de dissolution était observé, avec une dissolution complète en 20 minutes. Les échantillons du groupe D présentaient un comportement unique, avec une dissolution lente (50% de Zn dissolu après 30 minutes).

2.2. Essai *in vivo*

Des échantillons de chaque famille ont été retenus pour l'essai *in vivo* : ZnO-1 et ZnO-3 pour le groupe A, ZnO-4 pour le groupe B, ZnO-2 pour le groupe C et HZ pour le groupe D.

Les niveaux de Zn analysés dans les aliments correspondaient aux valeurs attendues. Aucune différence n'a été observée sur le poids vif. L'effet de la dose sur l'IC dépendait de la source.

Les valeurs de biodisponibilité calculées sont présentées dans le tableau 3, sachant que la biodisponibilité de ZnSO_4 était fixée à 100%. Les régressions linéaires entre le niveau de Zn dans l'os et la consommation de Zn présentaient des pentes différentes. Des différences significatives ont été observées pour la concentration de Zn dans l'os, dépendant de la source ($P < 0,05$) (Tableau 4).

Tableau 3 : Biodisponibilité relative de Zn en fonction de la source

Source	Biodisponibilité relative dans l'os (%)
ZnSO_4	100 ^{ab}
HZ	152 ^a
ZnO-1	124 ^{ab}
ZnO-2	126 ^{ab}
ZnO-3	56 ^b
ZnO-4	126 ^{ab}

Les valeurs obtenues variaient de 56 à 152%. Cette grande variabilité est en accord avec les résultats mesurés dans des études antérieures (Edwards & Baker, 1999 ; Narcy, 2015). Les résultats suggèrent que les caractéristiques physico-chimiques pourraient avoir un impact non négligeable sur la biodisponibilité des produits et, la cinétique de dissolution pourrait jouer un rôle sur la biodisponibilité.

Concernant la concentration en Zn dans le contenu du gésier et le contenu de l'intestin, aucune différence significative n'a été observée. La concentration de Zn dans l'iléum des oiseaux ayant consommé du ZnO-3 était la plus élevée : $0,189 \pm 0,027$ mg Zn/g contenu intestinal sec pour la dose la plus élevée, tandis que les autres sources se situaient entre $0,157 \pm 0,005$ mg/g et $0,164 \pm 0,008$ mg/g à même dose. Ce résultat est cohérent avec sa biodisponibilité très basse et la faible concentration de Zn dans l'os. L'étude *in vitro* avait déjà montré que cette source de ZnO est presque inerte ; elle pourrait passer dans le tractus gastro-intestinal sans être dissoute, et donc sans être absorbée par l'animal.

La corrélation entre la biodisponibilité mesurée dans l'os et les caractéristiques physico-chimiques a été calculée ; cette analyse suggère que la taille des agrégats et l'aire de la surface spécifique sont les critères les plus pertinents pour prédire la biodisponibilité des poudres de ZnO. Des études

complémentaires sont néanmoins nécessaires pour définir les critères les plus pertinents de prédiction de la biodisponibilité des sources.

CONCLUSION

La biodisponibilité des sources de ZnO varie avec leurs propriétés physico-chimiques. La cinétique de dissolution est influencée par ces propriétés *in vitro*. Il est notamment possible que les caractéristiques physico-chimiques puissent avoir un effet sur la vitesse de dissolution. Une corrélation entre les valeurs de biodisponibilité et les propriétés physico-chimiques a montré que 43% de la biodisponibilité pouvait être expliquée par la taille des agrégats, et 27% par l'aire de la surface spécifique des échantillons.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anwar, M., Ravindran, V., Morel, P., Ravindran, G., Cowieson, A., 2016. Br. Poult. Sci. 2016 57 (5), 707-713.
- Balakrishnan, A., Pizette, P., Martin, C. L., Joshi, S. V., Saha, B. P., 2010. Acta Mat., 58 (3), 802-812.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.actamat.2009.09.058>
- Borm, P., Klaessig, F. C., Landry, T. D., Moudgil, B., Pauluhn, J. r., Thomas, K., Trottier R., Wood, S., 2006. Toxicol. Sci., 90 (1), 23-32. doi:10.1093/toxsci/kfj084
- Edwards, H. M., Baker, D. H., 1999. J. Anim. Sci., 77 (10). doi:/1999.77102730x
- Littel, R.C., Henry, P.R., Lewis, A.J., Ammerman, C.B., 1997. J. Anim. Sci., 75, 2672-2683.
- Narcy, A., Roméo, A., Mème, N., Nys, Y., & Durosoy, S., 2015. 11e Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 25 et 26 mars 2015.
- Nichols, G., Byard, S., Bloxham, M. J., Botterill, J., Dawson, N. J., Dennis, A., Diart, V., North, NC., Sherwood, J. D., 2002. J. Pharm. Sci., 91 (10), 2103-2109. doi:10.1002/jps.10191

Tableau 4 : Performances de croissance et Zn osseux

Source	Dose	Poids J22/23 (g)			IC J8-J22/23			Zn osseux (mg/Kg MS)		
Basal	23,5	744	±	43,73	1,38	±	0,14	85,69	±	4,22
ZnSO ₄	28,4	765,78	±	51,82	1,36	±	0,07	100,38	±	4,81
	34,5	771	±	43,77	1,44	±	0,1	107,55	±	2,92
HZ	28,9	761,78	±	21,68	1,47	±	0,14	100,81	±	4,10
	34,5	816,11	±	24,91	1,32	±	0,07	120,68	±	3,40
ZnO-1	29,7	783,44	±	37,4	1,3	±	0,05	99,92	±	2,70
	36,6	800,33	±	17,72	1,49	±	0,07	113,83	±	3,05
ZnO-2	29,3	780,63	±	37,98	1,3	±	0,05	101,54	±	4,58
	33,6	840,11	±	24,14	1,28	±	0,07	115,95	±	4,05
ZnO-3	29,3	819	±	21,33	1,41	±	0,06	91,16	±	4,12
	33,1	821,11	±	17,94	1,19	±	0,07	99,94	±	5,77
ZnO-4	28,5	840,11	±	24,14	1,28	±	0,07	102,25	±	3,07
	35,4	806,33	±	30,79	1,37	±	0,06	116,66	±	3,28
Source		NS			NS			< 0,001		
P-value Dose		NS			< 0,01			< 0,001		
Source*Dose		NS			< 0,01			NS		