

VII. — MESURE DE LA LYSINE LIBRE DU MUSCLE CHEZ LE POULET

M. LARBIER, J. GUILLAUME et C. CALET

*Station de Recherches avicoles,
Centre de Recherches de Tours, I. N. R. A., 37 - Nouzilly*

RÉSUMÉ

La disponibilité de la lysine des six échantillons de maïs précédemment décrits est évaluée *in vivo* chez le Poulet à la fois par la mesure du gain de poids et du taux de lysine libre du muscle.

Pour chaque échantillon de maïs, les poulets élevés en cages collectives, reçoivent pendant 8 jours des régimes supplémentés avec des doses croissantes de L-lysine (0-0,2-0,4 p. 100).

A la suite de ce premier essai, seuls les poulets ayant reçu les régimes les mieux supplémentés en lysine sont conservés et mis en cages individuelles pour mesurer la lysine libre du muscle.

Pour l'ensemble des conditions nutritionnelles, les résultats de croissance ne permettent pas de mettre en évidence de différences significatives entre les six échantillons de maïs. Pourtant, il existe une interaction entre la température de séchage du grain et le taux de lysine du régime : séchés à 80°C, les maïs présentent une efficacité maximum lorsque le régime n'est pas supplémenté en lysine alors que les maïs séchés à 140°C permettent les meilleurs gains de poids lorsque la lysine est ajoutée au taux le plus fort dans l'aliment.

La teneur du muscle en lysine libre est une mesure extrêmement sensible qui traduit avec précision les dommages causés aux grains par la température et, à un moindre degré, par l'échauffement. Elle est en bonne corrélation avec le test de CARPENTER mais elle ne reflète pas les variations du gain de poids.

INTRODUCTION

Depuis longtemps (FAIBRANKS et MITCHELL, 1935 ; CARPENTER, 1957), on connaît le rôle néfaste de la chaleur et de la conservation sur la valeur biologique des protéines alimentaires. Les acides aminés de ces dernières, et surtout la L-lysine en raison de son groupement NH_2 libre, s'associent de manière irréversible à des substances ternaires pour donner des complexes (réaction de MAILLARD, 1912).

Déjà CALET et de LAMBILLY, 1960 ; CALET et TARDIF, 1960 et CALET (non publié) avaient suspecté l'effet des traitements technologiques du maïs sur la disponibilité des acides aminés. Nous nous sommes demandé dans quelle mesure des conditions de préstockage et de séchage, contrôlées de façon rigoureuse, pouvaient altérer la disponibilité de la lysine chez le Poulet.

On sait depuis les travaux de ZIMMERMAN et SCOTT, 1965 que le taux des acides aminés libres du plasma du Poulet représente un critère sensible de mesure de l'efficacité des protéines et de la disponibilité de leurs acides aminés. Nous avons perfectionné cette méthode d'une part en appliquant un plan de rationnement précis et d'autre part en nous adressant au muscle puisque ce tissu possède une aptitude toute particulière à concentrer les acides aminés libres (PAWLAK et PION, 1968). Dans ces conditions, il existe une relation étroite entre la lysine libre du muscle et la quantité de L-lysine disponible ingérée par l'animal (LARBIER, GUILLAUME et BLUM, 1971).

Nous avons donc appliqué cette méthode biologique au cas des échantillons de maïs et comparé les résultats à ceux obtenus par les mesures classiques de croissance ou par la méthode chimique de disponibilité de la L-lysine.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Dans la première partie de l'expérience, on mesure la réponse de croissance de poussins nourris avec des régimes renfermant 49,5 p. 100 de chaque maïs et supplémentés avec des taux croissants de L-lysine, HCl.

Pour cela nous utilisons des poussins non sexés provenant d'un lot de 324 animaux issus d'un croisement expérimental voisin des croisements commerciaux de type « chair ». Ces poussins

TABLEAU I

Composition du régime préexpérimental (en p. 100)

Maïs	49,5
Tourteau de Tournesol 42	30
Gluten de Maïs	6
Huile de Maïs	4
Amidon	5,5
L-lysine HCl	0,5
Phosphate bicalcique	1,75
Sel vétérinaire	0,50
Carbonate de calcium	1,50
Oligo-éléments ⁽¹⁾	0,50
Complément vitaminique ⁽²⁾	0,25
Protéines totales (N × 6,25)	20,7
Énergie métabolisable	3 025 Kcal/kg
L-lysine	1,18
Acides aminés soufrés	0,88
dont Méthionine	0,57

⁽¹⁾ Mélange apportant par 100 kg d'aliment : sulfate de cuivre = 3,5 g, sulfate de cobalt = 0,5 g, molybdate de sodium = 0,25 g, sulfate de zinc = 75 g, iodure de potassium = 0,75 g, carbonate de calcium = 167 g, Sulfate de manganèse = 100 g, oxyde de magnésie = 50 g, carbonate de magnésie = 40 g, sulfate de fer = 37,5 g.

⁽²⁾ Mélange vitaminique apportant par 100 kg d'aliment : vitamine A = 2 200 000 UI, vitamine D₃ = 280 000 UI, α -tocophérol 7,5 g, nicotinamide = 1 400 mg, pantothénate de Ca = 800 mg, vitamine B₁₂ = 0,14 mg, riboflavine = 600 mg, choline = 15 g, BHT = 18 g, avoine q.s.p. = 250 g.

sont nourris pendant deux semaines avec un régime préexpérimental (tabl. 1). On constitue ensuite 36 lots homogènes de 5 animaux. Chaque lot reçoit *ad libitum* pendant 8 jours l'un des 18 régimes expérimentaux. Ceux-ci dérivent du régime préexpérimental : le maïs ordinaire est remplacé par l'un des 6 maïs étudiés et l'apport de L-lysine est de 0, 0,2 et 0,4 p. 100 au lieu de 0,5 p. 100. Ainsi, chaque maïs rentre dans trois régimes qui sont testés sur deux lots de 5 poussins.

Tous ces régimes sont théoriquement complets et équilibrés sauf en ce qui concerne la L-lysine où ils sont au mieux subdéficients.

Les animaux sont pesés au début et à la fin de l'essai. On enregistre également la consommation par cage.

A la suite de cet essai, deux animaux par lot choisis au hasard sont placés en cage individuelle en continuant d'être nourris avec les mêmes régimes. On ne retient pour les résultats que les sujets qui ont reçu les régimes supplémentés de 0,4 p. 100 de lysine. Pendant cette période, les poulets sont amenés progressivement à ne consommer quotidiennement qu'un seul repas de 2 heures.

Le 7^e jour tous les sujets sont sacrifiés après un jeûne de 22 heures. Nous prélevons immédiatement sur chaque poulet une portion de la masse musculaire pectorale gauche et constituons 18 échantillons en réunissant 2 à 2 les muscles de poulets de même régime.

Les échantillons sont immédiatement plongés dans l'azote liquide puis maintenus congelés à -18°C jusqu'à l'analyse. Nous utilisons l'acide sulfosalicylique en solution à 4,5 p. 100 comme agent d'extraction des acides aminés libres.

Le dosage de la lysine libre est effectué au moyen d'un auto-analyseur TECHNICON selon une technique que nous avons mise au point : colonne de 75 cm contenant de la résine C₂, tampon d'élution à pH : 4,40, débit 0,95 ml/mn, température d'élution 37°C (LARBIER, non publié).

RÉSULTATS

I. — Croissance

Les résultats figurent aux tableaux 2, 3 et 4. Parmi les trois facteurs étudiés : mode de conservation, température de séchage et supplémentation en L-lysine, seul le dernier a un effet net sur la croissance ($P < 0,01$). Les légères différences

TABLEAU 2
Gain de poids (g)

Type de maïs	L-lysine ajoutée en %				Moyenne
	0	0,2	0,4	Moyenne	
R ₈₀	43,5	66,5	71,1	60,36	58,04 (R)
R ₁₄₀	39,9	54,5	72,6	55,71	
E ₈₀	44,3	56,9	69,3	56,83	57,50 (E)
E ₁₄₀	39,8	53,3	81,4	58,16	
F ₈₀	43,2	57,9	68,1	56,4	58,25 (F)
F ₁₄₀	42,1	60,6	77,6	60,11	
Moyennes	41,95	58,32	73,52		

de gain de poids constatées entre les lots d'animaux nourris avec des maïs distincts au même taux de supplémentation ne s'avèrent jamais significatives. Il faut cependant souligner l'existence de trois interactions significatives :

TABLEAU 3
Indice de consommation

Maïs	L-lysine ajoutée en %				
	0	0,2	0,4	Moyenne	Moyenne
R ₈₀	2,28	1,77	1,59	1,88	1,91 (R)
R ₁₄₀	2,31	1,92	1,61	1,95	
E ₈₀	2,31	1,81	1,63	1,91	1,93 (E)
E ₁₄₀	2,26	1,97	1,60	1,94	
F ₈₀	2,21	1,88	1,62	1,90	1,84 (F)
F ₁₄₀	2,09	1,74	1,53	1,78	
Moyenne	2,24	1,85	1,59		

a) Interaction température \times mode de conservation. La température la plus élevée est préjudiciable aux maïs R et exerce un effet favorable sur les maïs F. Par contre, elle ne semble pas altérer le maïs échauffé E.

TABLEAU 4
Consommation moyenne (g)

Maïs	L-lysine ajoutée en %				
	0	0,2	0,4	Moyenne	Moyenne
R ₈₀	99	118	113	110	107,3 (R)
R ₁₄₀	92	105	117	104,6	
E ₈₀	102	103	113	106	107,2 (E)
E ₁₄₀	90	105	130	108,3	
F ₈₀	93	109	112	104,6	104,5 (F)
F ₁₄₀	88	106	119	104,3	
Moyenne	94,0	107,6	117,3		

b) Interaction température \times supplémentation en L-lysine. Globalement les maïs séchés à 80°C donnent les meilleurs gains de poids lorsque le régime est très déficient en L-lysine. Ce sont les résultats opposés que nous observons quand on ajoute 0,4 p. 100 de L-lysine.

Cette interaction est confirmée par l'existence de différences significatives entre les pentes des droites donnant la croissance en fonction du taux de L-lysine ajoutée (fig. 1). Tout se passe comme si la supplémentation favorisait davantage les maïs séchés à 140°C.

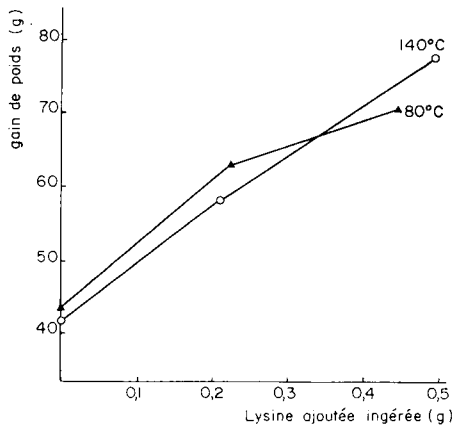


FIG. 1. — Influence de la température de séchage du maïs sur la réponse de croissance du Poussin à la supplémentation en lysine (Ensemble des 3 modes de conservation)

c) Enfin signalons l'existence d'une interaction du 2^e ordre : mode de conservation \times température \times supplémentation dont l'interprétation est difficile.

On peut donc conclure à l'examen de ces résultats, que les 6 types de maïs pris globalement ne sont jamais très différents les uns des autres. L'interaction température \times supplémentation peut s'interpréter comme suit : la faible supplémentation en lysine met mieux en lumière la mauvaise disponibilité de cet acide aminé dans les maïs traités à 140°C. Une supplémentation plus substantielle (0,40 p. 100) s'accompagnant d'une amélioration de l'appétence des régimes inverse le classement des maïs.

L'efficacité alimentaire n'est améliorée de façon nette que par l'apport de L-lysine. Les fluctuations de l'indice de consommation observées par ailleurs résultent surtout des différences de gain de poids ou de consommation.

2. — Mesure de la lysine libre du muscle

Nous ne considérons la lysine libre du muscle que dans la mesure où le régime est légèrement subdéficient en cet acide aminé. Dans ces conditions (tabl. 5 et 6) nous observons un effet très net des différents facteurs étudiés : mode de conservation et température de séchage.

a) *Mode de conservation.*

Les maïs R entraînent les plus fortes teneurs en lysine libre du muscle et les maïs E les plus faibles (24 p. 100 de moins).

TABLEAU 5

Lysine libre du muscle en mg/100 g de muscle frais/100 g d'aliment ingéré
L-lysine ajoutée : 0,4 p. 100

	R ₈₀	R ₁₄₀	E ₈₀	E ₁₄₀	F ₈₀	F ₁₄₀
Lysine libre.	9,18	7,25	8,25	4,0	7,1	6,66

TABLEAU 6

Résultats récapitulatifs exprimés en taux de lysine disponible et obtenus par différentes méthodes (1)

Maïs	Lysine disponible (CARPENTER) (2)	Gain de poids		Lysine libre du muscle
		Sans supplémentation	0,4 % lysine ajoutée	0,4 % lysine ajoutée
R ₈₀	100	100	100	100
R ₁₄₀	88	91,7	102,1	78,5
E ₈₀	97	101,8	97,5	92
E ₁₄₀	79	91,5	114,5	44
F ₈₀	96,5	99,3	97,2	77
F ₁₄₀	82	96,8	109,1	72
R	94	95,9	101,1	89
E	88	96,7	106,0	68
F	88	98,1	103,2	75
80	98	100,4	98,2	90
140	83	93,3	108,6	65

(1) Dans tous les cas on a distribué la valeur 100 au maïs R₈₀ considéré comme témoin.

(2) Cf. rapport de B. GODON, et L. PETIT (V).

b) *Température de séchage.*

Quel que soit le mode de conservation, le séchage à 140°C semble préjudiciable au dépôt de la lysine sous forme libre dans le muscle. Ainsi pour une même quantité d'aliment ingérée (fig. 2) la teneur en lysine libre du muscle est toujours plus élevée quand les animaux sont nourris avec des maïs séchés à 80°C. Nous avons ainsi une très nette illustration de l'effet particulièrement défavorable de la température la plus élevée (140°C) sur la disponibilité de la lysine.

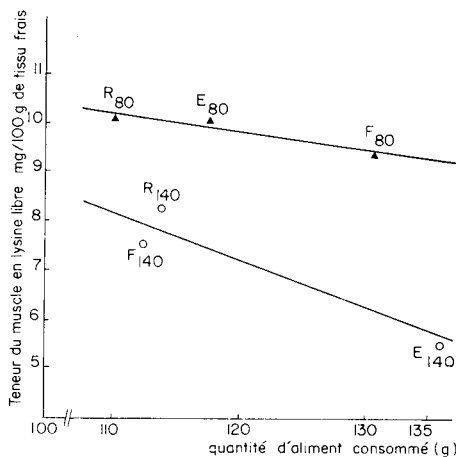


FIG. 2. — Relation entre quantité d'aliment ingérée et teneur en lysine libre du muscle de poulet nourri des différents échantillons de maïs

Bien que l'on ne puisse pas vérifier statistiquement l'existence d'une interaction entre ces facteurs, le traitement F semble être le plus défavorable quand la température de séchage est de 80°C alors que pour 140°C c'est E qui donne la plus faible disponibilité.

DISCUSSION

Nous avons comparé nos résultats concernant le gain de poids, l'efficacité alimentaire et la teneur en lysine libre du muscle d'une part au taux de lysine disponible mesuré sur ces mêmes maïs par GODON et PETIT. (V) ; d'autre part dans le tableau 6 nous avons présenté les résultats en pourcentage du lot R₈₀.

1° La teneur en lysine libre du muscle est en corrélation positive et élevée avec le taux de lysine disponible mesuré *in vitro* ($r = 0,87$, $P = 0,05$). Le test biologique que nous proposons est toutefois plus sensible. Exprimées en terme de disponibilité, les valeurs obtenues par cette méthode se situent dans une gamme plus étalée que ne le sont les résultats *in vitro* comme l'indique l'équation de régression :

$$y = 1,93 x - 97,24 \text{ où}$$

$$y = \text{teneur en lysine libre du muscle } (y = 100 \text{ pour } R_{80})$$

et

$$x = \text{taux de lysine disponible mesuré } in vitro.$$

2° La teneur en lysine libre du muscle rend compte d'une manière très nette des dommages subis par les protides du maïs sous l'effet des traitements puisque sa valeur peut être réduite de moitié. Une fois de plus la sensibilité de cette mesure est mise en lumière.

3° Toutefois, il n'y a aucune corrélation entre la teneur en lysine libre du muscle et le gain de poids ou l'efficacité alimentaire chez des sujets recevant un régime subdéficient (supplément de 0,4 p. 100 de lysine). Les coefficients de corrélation, non significatifs, sont respectivement de 0,06 et - 0,17.

En revanche, lorsque les régimes sont très déficients en lysine (sans apport de supplément) le gain de poids des poulets rend compte — à un degré plus faible que les tests de laboratoire — de l'effet de la température sur l'efficacité des grains. C'est néanmoins le seul cas où la lysine disponible et le gain de poids vont dans le même sens.

CONCLUSION

L'étude de la lysine libre du muscle de Poulet dans des conditions d'alimentation bien particulières permet d'évaluer la teneur du maïs en lysine disponible. Nos résultats sont en bon accord avec ceux obtenus par l'analyse chimique (méthode de CARPENTER). Ils démontrent clairement les effets néfastes de la conservation par ventilation d'air refroidi, de l'échauffement, du séchage à 140°C et surtout de la combinaison échauffement — séchage à 140°C. La mesure que nous proposons constitue un critère encore plus sensible de la disponibilité de la lysine.

Les tests de croissance en revanche ne fournissent qu'une réponse globale des effets des traitements non spécifiques de la lysine disponible même quand celle-ci est le facteur limitant primaire des protéines.

SUMMARY

VII. — MUSCLE LEVEL OF FREE LYSINE IN THE CHICK

The availability of the lysine in the six samples of maize previously described was evaluated *in vivo* in the chick using body weight gain and muscle level of free lysine.

The chicks, reared in collective cages, were fed diets supplemented with 0, 0.2 and 0.4 p. 100 L-lysine for each sample of maize. At the end of this trial only birds fed the diets supplemented with 0.4 p. 100 lysine were kept and reared in individual cages for measurement of muscle free lysine.

Growth trial results did not show any general difference among the samples of maize. However an interaction between drying temperature and dietary lysine level appeared : without lysine supplementation maizes were most efficient when dried at 80°C while with 0.4 L-lysine supplementation growth was maximum when maizes had been dried at 140°C.

The muscle level of free lysine was a very sensitive measurement that indicated with accuracy the damages occasionned to maize by high temperature or, at a smaller degree, by heating. It was in good correlation with available lysine according to CARPENTER but it did not indicate the weight gain variations.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CALET C., de LAMBILLY H., 1960. Étude de la valeur alimentaire du maïs grain séché artificiellement pour le poussin en croissance. I. Influence du mode de séchage sur la disponibilité des acides aminés. *Ann. Zootech.*, **9**, 181-184.
- CALET C., TARDIF H., 1960. Étude de la valeur alimentaire du maïs grain séché artificiellement pour le poussin en croissance. II. Influence de la durée qui sépare la récolte du séchage. *Ann. Zootech.*, **9**, 349-354.
- CARPENTER J. K., 1957. The chemical and biological assay of lysine in foods. *4^e Congrès intern. de Nutrition, Résumés des communications*, 154-155, Paris.

- FAIBRANKS B. W., MITCHELL H. H., 1935. The nutritive value of skim milk powders, with special reference to the sensivity of milk proteins to heat. *J. Agri. Res.*, **51**, 1107-1121.
- LARBIER M., GUILLAUME J., BLUM J. C., 1971. Muscle levels of free lysine and methionine in chicks fed a single daily meal. *Nutr. Rep. Int.* **3**, 273-276.
- MAILLARD L. C., 1912. Action des acides aminés sur les sucres. Formations des mélanoïdines par voie méthodique. *C. R. Acad. Sci.*, **154**, 66-68.
- PAWLAK M., PION R., 1968. Influence de la supplémentation des protéines de blé par des doses croissantes de lysine sur la teneur en acides aminés libres du sang et du muscle du rat en croissance. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **8**, 517-530.
- ZIMMERMAN R. A., SCOTT H. M., 1965. Interrelationship of plasma amino acid levels and weight gain in the chick as influenced by suboptimal and superoptimal dietary concentration of single amino acid. *J. Nutr.*, **87**, 13-18.
-