

INFLUENCE DE LA « FRADIASE », UN ADDITIF ALIMENTAIRE A ACTIVITÉ PROTÉOLYTIQUE, SUR L'UTILISATION DE LA FARINE DE VIANDE ET LES PERFORMANCES DE LA POULE PONDEUSE

J. C. BLUM et B. SAUVEUR

avec la collaboration technique de Solange GUILLAUMIN

*Station de Recherches avicoles,
Centre de Recherches de Tours, I. N. R. A.,
Nouzilly, B. P. 1, 37380 Monnaie*

RÉSUMÉ

La « fradiase », extrait de *Streptomyces fradiae* à activité protéolytique, est ajoutée à deux types de régimes (16 p. 100 ou 14 p. 100 de protéines) distribués à des poules pondeuses. L'addition est effectuée à raison de 1 p.p.m. au cours d'une première période expérimentale de 1 mois et à raison de 100 p.p.m. le mois suivant.

Le nombre d'œufs pondus est identique dans tous les lots, mais le poids de l'œuf diminue chez les poules consommant le régime le plus pauvre en protéines. L'addition de « fradiase » à ce régime empêche la diminution du poids de l'œuf et paraît ainsi valoriser la farine de viande (8,5 p. 100 du régime). A petite dose (1 p.p.m.) la « fradiase » tend à accroître l'appétence de l'aliment et, dans le régime normal (16 p. 100 de protéines), elle accélère l'augmentation du poids de l'œuf. A forte dose (100 p.p.m.) elle favorise le transfert des caroténoïdes et accentue significativement la coloration du jaune d'œuf, quel que soit le niveau azoté du régime.

INTRODUCTION

La production d'enzyme protéolytique par *Streptomyces fradiae* (NICKERSON, NOVAL et ROBISON, 1963 ; MORIHARA, OKA et TSUZUKI, 1967) a conduit à l'isolement d'un complexe actif (HOOREMAN, 1973) commercialisé sous le nom de « fradiase »⁽¹⁾. La fradiase serait capable d'hydrolyser des protéines réputées peu digestibles :

(1) Sociétés Eurozym et Oril, 26, rue Berthollet, 75005 Paris.

kératine, collagène, élastine, mucoprotéines. Elle devrait donc améliorer l'utilisation alimentaire de certaines sources de protéines. Par ailleurs, en provoquant une évacuation continue du mucus intestinal en excès, elle pourrait favoriser l'absorption des nutriments (HOOREMAN, 1973).

Il paraissait intéressant de rechercher l'influence de la « fradiase » sur l'efficacité des aliments et plus spécialement sur l'efficacité d'une source de protéines telle que la farine de viande qui est riche en collagène et en élastine et dont l'utilisation peut être liée à la digestibilité (DANGOUMAU, 1959 ; FERRANDO, HENRY et VAIMAN, 1962). L'étude a été entreprise chez la Poule pondeuse en réduisant les apports alimentaires de protéines, calcium et caroténoïdes afin d'obtenir des niveaux assez bas pour les caractéristiques de l'œuf correspondantes (poids de l'œuf, index de coquille et couleur du jaune) et de déceler ainsi l'influence valorisante de la « fradiase ».

TABLEAU I

Composition des régimes (1)

	Régime 14	Régime 16
Blé	68	67
Avoine	17	12
Viande	8,5	3
Soja 50 p. 100	0	7
Poisson de Norvège	0	2
Huile de maïs	2	2
Calcimarine	3,5	3,5
Poudre d'os	0	2,5
Chlorure de sodium	0,20	0,20
Bicarbonate de Na	0,25	0,25
Complément minéral (2)	0,15	0,15
Complément vitaminique (3)	0,40	0,40
Calories (Kcal/Kg)	2 827	2 831
MAT (p. 100)	14,2	16,1
Calcium (p. 100)	2,46	2,48
Phosphore (p. 100)	0,91	0,92

(1) Les régimes 14 F et 16 F sont additionnés de fradiase : 1 p.p.m. pendant la première période, 100 p.p.m. pendant la deuxième période expérimentale.

(2) Composition du complément minéral :

Sulfate de cuivre	7 g	Molybdate de sodium	0,5 g
Sulfate de cobalt	1 g	Sulfate de zinc	150 g
Sulfate de manganèse .	200 g	Oxyde de magnésium	100 g
Sulfate de fer	75 g	Carbonate de calcium .	335 g
	Iodure de K		1,5 g
	Carbonate de magnésium		80 g

(3) Composition du complément vitaminique :

Vitamine A : 800 000 UI ; Vitamine D₃ : 100 000 UI ; Riboflavine : 0,2 g ; Pantothénate de calcium : 0,2 g ; BHT : 10 g ; Vitamine E : 4 g ; Chlorure de choline : 37,5 g ; DL Méthionine : 50 g ; Avoine broyée en quantité suffisante pour 400 g.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Animaux et régimes

Les poules placées dans des cages individuelles sont issues de croisements commerciaux *Rhode Island Red* × *Wyandotte* (M 519). Elles sont âgées de 40 semaines (4^e mois de ponte) en début d'expérience. Cette dernière se déroule en 3 phases successives qui durent chacune 1 mois.

La *période pré-expérimentale* (pré-expérience) permet de juger des performances de chaque poule. En effet, tous les animaux sont placés dans des conditions identiques et disposent d'un seul et même régime offert *ad libitum*. Ce dernier (régime 16), dont la composition est indiquée dans le tableau 1, renferme 16 p. 100 de protéines de bonne qualité et satisfait aux besoins de la ponte. Cependant, sa teneur en calcium (2,46 p. 100) est insuffisante pour assurer le poids de coquille maximum ; par ailleurs, il est pauvre en caroténoïdes et devrait conduire à la production de jaunes d'œufs très peu colorés. A la fin de cette période pré-expérimentale, on constitue 4 lots de 22 poules, lots aussi semblables que possible en fonction des critères choisis dans cette étude : intensité de ponte, poids de l'œuf et de ses constituants, couleur du jaune, qualité de l'albumen, poids des animaux et consommation.

Pendant la *première période expérimentale*, les 4 lots précédemment constitués disposent chacun d'un régime différent offert *ad libitum* :

- Régime 16 précédemment défini ;
- Régime 16 F identique au précédent, mais supplémenté par 1 p.p.m. de « fradiase » (quantité théorique ajoutée) ;
- Régime 14 dont la composition figure au tableau 1 ; ce régime contient une proportion importante de farine de viande (8,5 p. 100) en remplacement du tourteau de soja et de la farine de poisson ; sa teneur en protéines brutes est relativement faible (14,1 p. 100) ; il est par ailleurs identique au régime 16 (même teneur en calcium, phosphore et caroténoïdes) ;
- Régime 14 F identique au régime 14 mais supplémenté par 1 p.p.m. de « fradiase ».

La *deuxième période expérimentale* maintient l'existence des 4 lots correspondants aux régimes 16, 16 F, 14 et 14 F. La seule différence avec la période précédente concerne la supplémentation en « fradiase » qui est augmentée et passe de 1 à 100 p.p.m. dans les régimes 16 F et 14 F.

Mesures effectuées

Les œufs sont recueillis quotidiennement et la ponte contrôlée individuellement pendant toute la durée de l'essai.

Pendant la quatrième semaine de chacune des 3 périodes (pré-expérience et périodes expérimentales 1 et 2) on conserve 3 œufs/poule dont on mesure le poids et celui des différents constituants : coquille, jaune et albumen. Pour ce faire, le jaune est isolé et débarrassé sur papier filtre de toute trace de blanc. La coquille est lavée et séchée à l'étuve (103°C) pendant 24 heures. Le poids de l'albumen est connu par différence. On détermine l'index de coquille grâce à la formule :

$$I = \frac{\text{Poids de la coquille} \times 100}{\text{Surface de la coquille}}$$

la surface de l'œuf étant évaluée à l'aide de tables lorsque l'on connaît le poids de l'œuf entier (MONGIN, 1965). La coloration du jaune est appréciée au moyen de l'échelle Roche ; cette méthode est très sensible lorsque le jaune d'œuf est très pâle, coloration et teneur en xanthophylles étant alors étroitement liées (MAINGUY et ROUGUES, 1965). La qualité du blanc d'œuf est appréciée par mesure des unités HAUGH (1937).

Pendant la quatrième semaine des 3 périodes, on contrôle également la consommation individuelle des poules et on mesure le poids vif des animaux.

Pour chaque critère et pour chaque poule, les résultats moyens obtenus pendant la pré-expérience servent de références. Ils permettent d'apprécier les effets des changements de régime en comparant les modifications enregistrées dans chaque lot à la fin des deux périodes expérimentales.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Quelle que soit la dose utilisée (1 ou 100 p.p.m.) la « fradiase » n'a eu aucun effet toxique. A la fin de la deuxième période, toutes les poules ont été sacrifiées et autopsiées. Aucune lésion n'a été observée. Les poids du foie et du pancréas ainsi que l'épaisseur de l'intestin grêle étaient identiques dans tous les lots.

Les résultats obtenus sur le plan zootechnique sont rassemblés dans le tableau 2. Les mesures effectuées pendant la pré-expérience montrent que le régime à 16 p. 100 de protéines, distribué alors à toutes les poules assure des performances satisfaisantes. Pendant les deux périodes expérimentales, la moyenne des variations individuelles permet de juger pour chaque critère des différences qui apparaissent entre lots.

Quel que soit le niveau azoté de la ration, la consommation alimentaire est souvent augmentée dans les lots consommant de la « fradiase » ; l'augmentation est significative pour le lot 16 F disposant seulement de 1 p.p.m. de « fradiase » (première période, comparaison 16 F *vs.* 14 et 14 F).

La diminution du niveau protidique de la ration (lot 14 *vs.* 16 ; première et deuxième période) n'altère pas l'intensité de ponte mais empêche l'accroissement du poids de l'œuf qui se manifeste normalement en cours de ponte : la réduction porte à la fois sur le poids d'albumen et celui de vitellus conformément aux résultats antérieurs de FISHER (1969). Nous vérifions ainsi une donnée précédemment établie : le poids de l'œuf est un critère sensible pour déceler une très légère déficience en acides aminés dans un troupeau comprenant un faible nombre d'animaux (LECLERCQ, 1970). L'addition de « fradiase » (lots 14 F) permet de maintenir un accroissement du poids de l'œuf entier en rétablissant le développement du vitellus, mais en laissant déprimée la formation de l'albumen.

Contre toute attente, la « fradiase » au taux de 1 p.p.m. a également une influence sur le poids de l'œuf dans le lot disposant d'une quantité suffisante de bonnes protéines. On note en effet un accroissement significatif dans le lot 16 F au cours de la première période expérimentale, mais la différence avec le lot témoin disparaît ensuite pendant la deuxième période. Contrairement à ce qui a été noté dans le paragraphe précédent relatif aux lots 14 et 14 F, l'augmentation du poids d'œuf dans le lot 16 F semble due davantage à l'albumen qu'au vitellus.

Ainsi, chez les poules manquant de protéines de bonne qualité (régime 14), l'addition de « fradiase » favorise la vitellogenèse et, par là, l'augmentation du poids de l'œuf. L'absence d'effet sur l'albumen montre cependant que l'enzyme n'accroît ni considérablement, ni sans doute systématiquement la disponibilité de tous les acides aminés. Une fois de plus on constate que les facteurs limitant l'activité de synthèse sont différents selon qu'il s'agit du jaune ou du blanc de l'œuf (LARBIER, BLUM et GUILLAUME, 1972).

Dans le cas du régime 16 normalement pourvu, le présent protocole ne permet pas de savoir pourquoi l'addition de « fradiase » conduit à une augmentation du poids de l'œuf qui n'est que temporaire : influence passagère de l'enzyme ou modification liée à la dose employée ?

En augmentant la coloration du jaune d'œuf lorsqu'elle est introduite dans un aliment pauvre en caroténoïdes, la « fradiase » a une influence inattendue. Cet effet

TABLEAU 2
Évolution des performances de ponte de la pré-période aux deux périodes expérimentales suivantes

Régime des poules	Pré-expérience (moyennes des performances)		Première période expérimentale (variations par rapport à la pré-expérience)				Deuxième période expérimentale (variations par rapport à la pré-expérience)			
	16		14	14 F*	16	16 F*	14	14 F**	16	16 F**
Quantité d'aliment consommée (g/jour)	129		— 10 ^a	— 6 ^a	— 4 ^{ab}	+ 11 ^b	— 3	+ 6	— 3	+ 9
Intensité de ponte (p. 100)	73		— 7	— 4	— 6	— 2	— 8	— 11	— 6	— 8
Poids de l'œuf entier (g)	62,1		— 0,8 ^a	+ 0,4 ^b	+ 1,5 ^c	+ 2,5 ^d	+ 0,0 ^{a'}	+ 1,4 ^{b'}	+ 2,7 ^{c'}	+ 2,9 ^{c'}
Poids du vitellus (g)	17,8		+ 0,1 ^a	+ 0,9 ^b	+ 0,7 ^b	+ 1,1 ^b	+ 0,4 ^{a'}	+ 1,3 ^{b'}	+ 1,5 ^{b'}	+ 1,6 ^{b'}
Poids de l'albumen(g)	39,1		— 0,9 ^a	— 0,5 ^a	+ 0,4 ^b	+ 1,2 ^c	+ 0,6 ^{a'}	+ 0,1 ^{a'}	+ 1,1 ^{b'}	+ 1,2 ^{b'}
Coloration du vitellus (Echelle Roche)	4,0		— 0,05 ^a	+ 0,14 ^b	+ 0,03 ^a	+ 0,09 ^{ab}	— 0,03 ^{a'}	+ 0,23 ^{b'}	— 0,07 ^{a'}	+ 0,21 ^{b'}
Qualité de l'albumen (unités Haugh)	85		— 3,6	— 5,6	— 3,2	— 5,0	— 1,8 ^{a'}	— 7,4 ^{b'}	— 4,6 ^{c'}	— 3,2 ^{c'}
Index de coquille (g/dm ²)	7,1		— 0,1	— 0,2	+ 0,0	+ 0,0	— 0,1	— 0,1	+ 0,0	+ 0,1

* 1 p.p.m. de fradiase dans l'aliment.
 ** 100 p.p.m. de fradiase dans l'aliment.
 Les variations sont exprimées en valeur absolue, elles diffèrent significativement (P < 0,05) lorsqu'elles ne sont pas suivies de la même lettre.

(quoique faible) est particulièrement visible ($P < 0,001$) pour la dose la plus forte de 100 p.p.m. On peut supposer que la « fradiase », en hydrolysant certaines mucoprotéines intestinales, a favorisé le transfert intestinal des caroténoïdes alimentaires, transfert qui constitue, on le sait, un facteur limitant de leur utilisation (DUA *et al.*, 1966).

La diminution générale de la valeur des unités Haugh est liée à l'avancement de la période de ponte. En dehors de toute addition de « fradiase », cette diminution est significativement moins marquée dans le lot 14 au cours de la deuxième période expérimentale. Ce résultat s'oppose à celui obtenu par MCINTYRE et AITKEN, 1959, avec les poules *White Leghorn* chez lesquelles la qualité de l'albumen (exprimée en grade USDA) ne semble pas liée à la teneur en protéines du régime. Dans le lot 14 F, pendant cette même deuxième période, la « fradiase » exerce une double action en augmentant le poids de l'œuf et en réduisant nettement ($P < 0,01$) la valeur des unités Haugh. Peut-être faut-il voir là le résultat d'une stimulation inégale de la synthèse des protéines, celles déterminant la qualité de l'albumen (mucine) étant moins abondantes que les autres. La valeur des unités Haugh dépend aussi, et pour une large mesure, du pH de l'équilibre ionique du blanc d'œuf (SAUVEUR, 1970). On pourrait invoquer une modification dans l'utilisation des minéraux ; cela est peu vraisemblable compte tenu de la valeur invariable de l'index de coquille. Aucun des traitements (protéines, « fradiase ») n'intervient sur le dépôt de carbonate de calcium dans l'utérus.

CONCLUSION

La « fradiase » peut être un additif alimentaire valable dans certaines conditions. L'augmentation du poids de l'œuf tend à prouver qu'elle améliore l'utilisation des protéines lorsque le régime est légèrement déficient. Le même effet, moins marqué et transitoire, observé en régime normal peut être lié à une stimulation de l'appétit. Tous ces effets étant maximum pour une dose extrêmement faible (1 p.p.m.) ils confèrent à la « fradiase » un intérêt certain lorsqu'une augmentation du poids de l'œuf peut être souhaitée (début de ponte).

L'augmentation du transfert des xanthophylles dans le jaune d'œuf est plus nette avec un apport élevé de « fradiase » (100 p.p.m.). En outre, nous avons constaté qu'avec d'autres régimes riches en caroténoïdes, cette action de la « fradiase » devient imperceptible (résultats non publiés). Elle est en effet masquée au niveau de coloration jaune orangé qui correspond à une accumulation massive des xanthophylles. Une possibilité demeure cependant, celle d'une synergie avec les caroténoïdes rouges (cantaxanthine) qui assurent à faible dose le virage de la couleur jaune à la couleur orange (BLUM, 1971).

Enfin, il resterait à étudier si des taux d'incorporation de « fradiase », intermédiaires entre ceux utilisés ici, conduisent à des résultats similaires ou non.

SUMMARY

EFFECT OF « FRADIASE »,
 A DIETARY ADDITIVE WITH PROTEOLYTIC ACTIVITY,
 ON THE UTILIZATION OF MEAT MEAL
 AND THE PERFORMANCES IN LAYING HENS

« Fradiase » is an enzymatic complex extracted from *Streptomyces fradiae*. It hydrolyzes proteins of low digestibility (collagen, elastin) and brings a partial emptying of the intestinal mucus. Its effect on the utilization of food has been studied in the laying hen. The experiment was carried out during three successive 1 month periods : one pre-experimental and two experimental periods.

During the pre-experimental period, all hens, kept in individual cages, were fed the same diet-16 (control diet containing 16 p. 100 of high value protein. At the end of the pre-experimental period the birds were divided into four groups with comparable performances. During the two following experimental periods, these four groups were fed different diets : diet-16, already defined, with or without fradiase (F), and a 14 p. 100 protein diet (diet-14) with or without fradiase (F). The amount of fradiase in diets 14 F and 16 F was 1 p.p.m. during the first experimental period and 100 p.p.m. during the second one.

The results, given in table 2 are mean performances during the pre-experiment and variations recorded during the experimental periods. The number of eggs was similar in all groups, but the egg weight decreased in the low protein diet group. The addition of fradiase (diet 14 F) avoided the lowering of the egg weight and therefore seems to valorize the meat meal. When given at the lowest dose (1 p.p.m.) fradiase seemed to increase food intake and accelerate the egg weight gain in group 16 F. When offered at the highest dose (100 p.p.m.), it enhanced the transfer of carotenoids and the coloration of the egg yolk in groups 16 F and 14 F.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BLUM J.-C., 1971. Caractéristiques du jaune de l'œuf. In *L'œuf de consommation*, 106-120. Hoffman-Laroche et C^{ie} Édit. 92 - Neuilly-sur-Seine, France.
- DANGOU MAU A., 1959. De l'examen des farines animales. *Ind. Alim. Anim.*, **102**, 19-47.
- DUA P. N., DAY E. J., TIPTON H. C., HILL J. E., 1966. Influence of dietary vitamine A on carotenoid utilization, nitrogen retention and energy utilization by the chick. *J. Nutr.*, **90**, 117-122.
- FERRANDO R., HENRY N., VAIMAN M., 1962. Étude sur la valeur alimentaire des farines de viande. *Rev. Méd. Vét.*, **138**, 457-461.
- FISHER C., 1969. The effects of a protein deficiency on egg composition. *Brit. Poult. Sci.*, **10**, 149-154.
- HAUGH R. E., 1937. The Haugh unit for measuring egg quality. *U. S. Egg Poult. Mag.*, **43**, 552-555.
- HOOREMAN M., 1973. Brevet français n° 2 034 559.
- LARBIER M., BLUM J. C., GUILLAUME J., 1972. Effets d'une déficience alimentaire en lysine et méthionine sur les performances de ponte et sur la teneur en acides aminés libres du jaune d'œuf. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **12**, 125-138.
- LECLERCQ B., 1970. Facteurs nutritionnels modifiant le poids de l'œuf et de ses constituants. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **10**, 239-252.
- MAC INTYRE T. M., AITKEN J. R., 1959. The protein requirements of laying hens in floor pens and individual cages. *Can. J. Anim. Sci.*, **39**, 176-181.
- MAINGUY P., ROUQUES A., 1965. Le jaune d'œuf. I. Étude générale de la couleur. II. La couleur des œufs du marché français. *Bull. Soc. Sci. Hyg. Alim.*, **53**, 83-116, 194-212.
- MONGIN P., 1965. Index de solidité de la coquille de l'œuf. Ses significations. Sa précision. *Ann. Zootech.*, **14**, 319-325.
- MORIHARA K., OKA T., TSUZUKI H., 1967. Multiple proteolytic enzymes of *Streptomyces fradiae* production, isolation and preliminary characterisation. *Biochim. Biophys. Acta*, **139**, 382-397.
- NICKERSON W. J., NOVAL J. J., ROBISON R. S., 1963. Keratinase. I. Properties of the enzyme conjugate elaborated by *Streptomyces fradiae*. *Biochim. Biophys. Acta*, **77**, 73-86.
- SAUVEUR B., 1970. Acidoses métaboliques expérimentales chez la poule pondeuse. II. Action sur la composition minérale de l'albumen de l'œuf. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **10**, 81-100.