

Oligoéléments

Du microscope au synchrotron



Animine et l'Institut de sciences analytiques et physio-chimie pour l'environnement et les matériaux du CNRS et de l'université de Pau et des pays de l'Adour sont engagés dans une structure commune de recherche et développement destinée à comprendre le métabolisme des éléments traces métalliques (en particulier Zn, Cu, Mn) pour la nutrition animale. Les premiers résultats, focalisés sur le processus de minéralisation de la coquille d'œuf, feront prochainement l'objet de publications scientifiques.

Cuivre, zinc, sélénium, manganèse, iode, fer, ... Les oligoéléments jouent un rôle fondamental dans la santé et les performances des animaux d'élevage. Leur supplémentation dans les rations est donc une pratique courante. Cependant, les apports doivent être quantifiés et maîtrisés car une carence peut engendrer des troubles physiologiques, dégrader les performances et le bien-être des animaux. Au contraire, un excès sera excrété, entraînant des risques d'éco-toxicité et de pollution des sols. Une bonne appréhension de leur comportement est donc nécessaire pour améliorer leur efficacité, éviter des surcoûts et diminuer la consommation de matières premières non renouvelables.

En ce sens, Animine, fournisseur français d'oligoéléments à valeur ajoutée pour l'alimentation animale, s'est associé à l'Institut des sciences analytiques et de physio-chimie pour l'environnement et les matériaux (Iprem) du CNRS et de l'université de Pau et des pays de l'Adour. Soutenus par l'Agence nationale de la recherche, ils ont créé, en 2021, le laboratoire commun Speciman (Speciation of metals for animal nutrition), afin d'étudier le métabolisme de ces éléments traces métalliques (en particulier le zinc, le manganèse et le cuivre) dans le tractus digestif des animaux et de définir le plus précisément possible leur assimilation par les organismes et leurs effets sur le microbiote intestinal.

Les axes de recherche du LabCom, qui mobilise cinq personnes (deux équivalents temps plein), visent à quantifier les oligoéléments, qualifier leur forme



Dirk Schaumlöffel travaille depuis 20 ans au sein de l'Iprem, à Pau. Il est spécialisé dans les analyses chimiques élémentaires sur les métaux. Marion Taris, ingénieure projet analytique, est la salariée d'Animine en charge du LabCom Speciman.

chimique et étudier leur localisation afin d'acquérir des connaissances sur leur métabolisme gastro-intestinal et sur leurs sites et mécanismes d'absorption et d'accumulation. « *Le but est d'améliorer les caractéristiques physico-chimiques des produits innovants (existants et nouveaux) d'Animine, pour améliorer leur biodisponibilité, affiner des recommandations de supplémentation et diminuer ainsi leur concentration dans les déjections animales* », indique Dirk Schaumlöffel, directeur du LabCom et directeur de recherche au CNRS, garant de l'« *impartialité scientifique* » des travaux menés par la structure.

Instruments avancés

« *La recherche est dans l'ADN d'Animine, appuie Stéphane Durosoy, président-fondateur de la société basée à Annecy. Depuis le début, nous avons la volonté de comprendre et d'être à l'avant-garde*

des sciences animales, nutritionnelles, biologiques et environnementales. Avec Speciman, nous bénéficions de techniques d'analyse et d'imagerie quasiment uniques dans le monde dans les domaines de la traçabilité et de la spéciation des éléments traces. » Stéphane Durosoy ajoute qu'il s'agit même « *du programme de recherche scientifique le plus ambitieux mené à ce jour pour explorer le devenir des oligoéléments au niveau digestif et leur absorption intestinale chez les animaux d'élevage* ».

La clé de ce programme réside dans les instruments avancés de l'Iprem. Au cœur du dispositif, un spectromètre de masse d'ions secondaires à l'échelle nanométrique (Nano Sims), pour l'imagerie d'éléments traces dans des cellules et des tissus biologiques au niveau nanométrique. Il délivre une image de la surface de l'échantillon permettant de mettre en évidence la distribution spatiale des éléments chimiques et de leurs isotopes. Il est ainsi possible de suivre le devenir des éléments au niveau subcellulaire et de comprendre le flux des nutriments. « *Il n'existe que trois machines comme celle-ci en France, précise Dirk Schaumlöffel. Et nous avons été les premiers au monde à l'équiper de plasma radiofréquence, source d'ions primaires permettant d'analyser les oligoéléments.* » La machine, fabriquée par la société Cameca à Gennevilliers, est installée dans une salle blanche. Elle a été acquise en 2013, dans le cadre d'un autre projet et a représenté un investissement de quatre millions d'euros.

L'Iprem dispose également d'un système LA-ICP-MS, spectromètre de masse à plasma à couplage inductif par abla-



La clé du programme Speciman réside dans les instruments avancés de l'Ipem. Au cœur du dispositif, un spectromètre de masse d'ions secondaires à l'échelle nanométrique (Nano Sims).



Les travaux menés jusqu'à présent par le LabCom se sont principalement focalisés sur le processus de minéralisation de la coquille d'œuf.

tion laser, afin de générer une imagerie à l'échelle micrométrique. Un IC-PMS multi-collecteur fournit aussi des rapports isotopiques avec la plus grande précision, afin de tracer la réactivité et le transfert des oligoéléments. « *Speciman s'inscrit dans la stratégie scientifique de l'Ipem, notamment le développement de connaissances fondamentales en chimie analytique et microbiologie, en relation avec des applications concernant la structure du vivant et la gestion de l'environnement* », indique Dirk Schaumlöffel. Marion Taris, ingénieure projet analytique pour Animine ajoute : « *la chimie analytique était très rarement utilisée en alimentation animale, alors qu'elle permet de répondre à beaucoup de questions. Elle demande une réelle expertise mais s'applique à tout.* »

Minéralisation de la coquille d'œuf

Les travaux menés jusqu'à présent par le LabCom se sont principalement focalisés sur la volaille et le processus de minéralisation de la coquille d'œuf. « *Nous avons mené un projet global pour aider à comprendre les mécanismes d'action du cuivre, du zinc et du manganèse dans les coquilles d'œufs.* » Objectif : améliorer la solidité de la coquille. Des œufs de poules nourries avec différents régimes, notamment enrichis en oligoéléments Animine, ont été collectés et testés. D'abord des tests de force de fracture. La distribution du cuivre, du zinc et du manganèse dans la coquille, à différents niveaux, a ensuite été étudiée, grâce à l'imagerie de pointe.

« *Il n'y a pas de distribution uniforme, renseigne Marion Taris. Nous avons réalisé, par tomographie, des images 3D de la*

coquille. Puis par ablation laser couplée ICP-MS, nous avons regardé sur toute l'épaisseur de la coquille la distribution métallique dans la coquille. Avec le Nano Sims, technique d'imagerie plus petite, plus ciblée, nous avons observé la structure à la base de la croissance de la coquille. » Résultat : « *il y a plus de manganèse à cet endroit spécifique de la structure, au niveau des cônes de croissance de la palissade de la coquille. Le manganèse arrive là où il faut pour être efficace, pour le développement et la dureté de la coquille.* »

Pour aller plus loin, le LabCom a eu accès à la technologie du Synchrotron, à Barcelone. Un accélérateur d'électrons qui produit des rayons X permettant d'étudier à la fois la spéciation chimique et la localisation des métaux. « *Peu d'entreprises ont accès à cet équipement de haute technologie* », précise



Afin d'atteindre une minéralisation de précision chez les ruminants, Animine a développé, en lien avec l'Ipem, AniGun, un outil portable destiné à analyser la fraction minérale des fourrages directement sur le terrain, basé sur la technologie XRF, spectrométrie par fluorescence des rayons X.

Marion Taris. « *Les laboratoires académiques peuvent, eux, y réserver des créneaux de quelques jours, sous réserve de validation de l'intérêt de la recherche* », complète Dirk Schaumlöffel. Cet outil a été utilisé pour étudier *in vitro* les zones spécifiques de présence du manganèse et son rôle dans la synthèse des polysaccharides. « *Les éléments traces sont importants dans le mécanisme enzymatique malgré leur très faible concentration* », souligne Marion Taris. Les conclusions de ces observations feront l'objet de publications scientifiques d'ici la fin 2024. La propriété intellectuelle des éléments découverts est partagée entre l'Ipem et Animine.

Dans le futur, un travail sera réalisé sur les tissus mous. Pour cela, le recrutement d'un doctorant est prévu dans les prochains mois, dans le cadre du dispositif subventionné Cifre (Convention industrielle de formation par la recherche). Il étudiera l'absorption du Zn et Cu dans l'intestin. Différents milieux gastriques synthétiques seront créés pour observer la cinétique de dissolution de la supplémentation minérale. Un projet « *qui impliquera la chimie analytique dès le début* » sera également mené en 2025 avec des partenaires extérieurs sur le manganèse chez les poules pondeuses (coquilles et os).

Le LabCom a été créé pour une durée de quatre ans et demi et devait prendre fin en juin 2025. « *Il sera pérennisé au-delà du temps initial, assure Dirk Schaumlöffel. Il s'agit d'un partenariat de long terme. Dans l'aliment, dans l'animal, après l'animal : il y a encore beaucoup de choses à faire !* »

Ermeline Mouraud