

Effet des tanins de châtaignier sur la digestion *in sacco* et *in vivo* des matières azotées chez les ruminants

V. DECRUYENAERE (1), D. REMOND (2), N. ZIMMER (3), C. PONCET (2), A. JEBRI (1), A. THEWIS (1)

(1) Faculté universitaire des Sciences agronomiques, Unité de Zootechnie, 2, passage des Déportés, B-5030 Gembloux (Belgique)

(2) INRA, Centre de Recherches de Clermont-Fd/Theix, Station de Recherches sur la Nutrition des Herbivores, F-63122 Saint-Genès-Champanelle (France)

(3) ENSAM-INRA, Unité de Zootechnie Méditerranéenne, F-34060 Montpellier Cedex (France)

RÉSUMÉ – Deux essais ont été conduits, l'un *in vivo*, l'autre *in sacco*, pour déterminer l'effet d'un extrait de tanins de châtaignier sur la dégradabilité de l'azote alimentaire et sa digestion dans l'intestin.

L'extrait de tanins (77 % de tanins) ajouté à faible dose (0,4 % des MAT de la ration) et au moment des repas à de l'ensilage d'herbe de bonne qualité distribué à des taurillons a augmenté le flux duodécal d'azote non ammoniacal ($P = 0,059$) et la digestibilité intestinale de l'azote ($P = 0,057$).

Du tourteau d'arachide broyé (2 mm) a été tanné par voie humide avec le même extrait de tanins afin d'obtenir 6 aliments contenant 0 - 0,5 - 1 - 5 - 10 et 20 % d'extrait de tanins par rapport aux MAT. La solubilité de l'azote du tourteau a diminué fortement et de façon exponentielle en réponse à l'accroissement de la dose de tanins. La dégradabilité théorique ruminale de l'azote (DT_6) ainsi que sa digestibilité intestinale estimée par la technique des sachets mobiles n'ont été significativement diminuées qu'aux doses 10 et 20 %. L'estimation de la quantité d'N digérée dans l'intestin varie peu jusqu'à la dose de 5 %, elle augmente fortement entre les doses 5 et 20 %.

L'amélioration du bilan de la digestion de l'azote dans le rumen en réponse à une faible dose de tanins ne semble pas attribuable à un tannage des protéines alimentaires mais plutôt à une action sur le métabolisme microbien de l'azote. Les mesures *in sacco* n'ont en effet révélé un effet protecteur des tanins sur les protéines alimentaires qu'au delà de la dose de 5 % d'extrait tannant (/MAT). L'absence de liaison entre la solubilité de l'azote et sa dégradabilité ruminale *in sacco*, pour les faibles doses de tanins, laisse cependant supposer que la dose minimale pour observer un effet protecteur des tanins est sensiblement surestimée par la méthode *in sacco*.

Effect of chestnut tannins on *in vivo* and *in sacco* protein digestion in ruminants

V. DECRUYENAERE (1), D. REMOND (2), N. ZIMMER (3), C. PONCET (2), A. JEBRI (1), A. THEWIS (1)

(1) Faculté universitaire des Sciences agronomiques, Unité de Zootechnie, 2, passage des Déportés, B-5030 Gembloux (Belgique)

SUMMARY – Two experiments, one *in vivo* the other *in sacco* were carried out in order to determine the influence of chestnut tannins on the protein digestion at the ruminal and intestinal levels in ruminants.

In the *in vivo* trial, good quality wilted grass silage was sprinkled with a tannin extract (0.4 % of crude protein) just at feeding time and fed to growing bulls. Tannins tend to increase the duodenal non ammonia nitrogen flow ($P = 0.059$) as well as the apparent intestinal nitrogen digestibility ($P = 0.057$).

In the second experiment, milled peanut cake (2 mm) has been tanned through a wet way with the same tannin extract in order to get six feeds containing 0, 0.5, 1, 5, 10 and 20 % of tannin extract on the crude protein basis. Nitrogen solubility of the cake was dramatically and exponentially decreased when tannin doses increased. The ruminal nitrogen degradability (DT_6) and the intestinal digestibility determined by the mobile bags technique, were significantly decreased at the 10 and 20 % doses. The amount of nitrogen digested in the intestine was nearly constant up to the dose of 5 % and it largely increased between the doses of 5 and 20 %.

The better ruminal nitrogen balance at the very low tannin level is probably due to an action on nitrogen microbial metabolism instead of a tanning effect towards feed proteins. The *in sacco* measurements only showed a protective effect of tannins on feed protein for doses higher than 5 % of tannin extract (/CP). The lack of relationship between the nitrogen solubility and the ruminal *in sacco* degradability, at low levels of tannins, suggests however that this minimal dose to observe a protective effect of tannins is slightly overestimated by the *in sacco* technique.

INTRODUCTION

Les tanins hydrolysables ou condensés sont naturellement présents chez les végétaux, les seconds étant de loin les plus abondants. Ce sont des composés phénoliques de nature variée et souvent complexe pouvant former des liaisons plus ou moins stables selon le pH, la nature et la quantité de tanin fixé et la nature du substrat, avec les protéines, les polymères glucidiques (cellulose, amidon, ...) et les minéraux.

L'intérêt nutritionnel des tanins chez les ruminants repose sur leur aptitude, d'une part, à prévenir les météorisations et, d'autre part, à améliorer l'efficacité de l'utilisation des matières azotées. Cette amélioration s'explique soit par une protection des protéines alimentaires vis-à-vis de la dégradation ruminale, soit par un recyclage plus efficace de l'urée dans le rumen, soit enfin par une augmentation du rendement de la protéosynthèse microbienne ruminale (Reed, 1995, Zimmer et Cordesse, 1996). En fait, d'après la littérature, relativement abondante pour les tanins condensés naturellement présents dans les légumineuses fourragères (2 à 10 % de la matière sèche), si l'effet bénéfique de protection des protéines dans le rumen est fréquemment observé, il semble dépendre de la concentration en tanins de l'aliment (Barry et al, 1986), et peut être compensé partiellement ou totalement par une diminution de la digestibilité intestinale des (ou de certains) acides aminés (Waghorn et al, 1994). De plus, la digestion ruminale des glucides pariétaux peut également être diminuée. De même que pour les protéines cet effet résulte directement d'une interaction tanin-substrat ou d'une inhibition sélective des enzymes microbiennes (Makkar et al, 1988 ; Jones et al, 1994) ou encore d'une inhibition de l'attachement des bactéries aux particules alimentaires (Makkar et al, 1988).

Une meilleure connaissance du mode d'action des tanins selon leur nature, leur concentration, les modalités de leur incorporation (cas des tanins rajoutés à un aliment), s'impose aujourd'hui afin de privilégier leurs effets nutritionnels positifs à leurs effets négatifs. Les résultats rapportés dans ce travail montrent les effets digestifs des tanins de châtaignier¹, tanins hydrolysables de la classe des ellagitannins. Ils sont issus de 2 essais : le premier se propose de décrire les effets digestifs de ces tanins ajoutés à faible dose à une ration d'ensilage d'herbe chez le taurillon ; le second de préciser par des mesures en sachets de nylon, la dose optimale de ces tanins à utiliser pour améliorer la valeur azotée d'un tourteau d'arachide.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. ESSAI 1

Six taurillons de la race Blanc Bleu Belge culards, d'un poids vif moyen de 400 kg et porteurs d'une canule ruminale et d'une canule duodénale simple ont été utilisés selon un schéma en cross-over (2 régimes x 2 périodes x 3 animaux par régime).

Les animaux ont reçu, en 2 repas espacés de 12 heures et à raison de 80 g MS/kg^{0,75}, un ensilage d'herbe préfanée en brins longs (prairie permanente, 2e coupe à 53 % de matière sèche (MS), dosant 20 % de matières azotées totales (MAT) par rapport à la matière sèche et 0,9 UFV/kg MS). Les tanins, distribués à raison de 4 g d'extrait/1000 g MAT, ont été mélangés au concentré minéral vitaminé et l'ensemble saupoudré sur une portion de la ration à chaque repas.

¹ Extrait de tanins CASTRAL = poudre dosant 77 ± 2 % de tanins ellagiques et 8,3 % d'eau ; produit dérivé de la fabrication de panneau de particules à partir de bois de châtaignier par Tanin International SNC, 81290 Labrugère (France).

Après une période d'adaptation de 3 semaines, les digestibilités de la matière organique, des matières azotées totales et de la lignocellulose ont été mesurées dans l'ensemble du tube digestif (collecte totale des fèces) et dans l'estomac (flux duodénal mesuré avec l'oxyde de Cr). La concentration en ammoniacale dans le rumen a également été déterminée.

1.2. ESSAI 2

Quatre moutons Texel porteurs d'une canule ruminale et d'une canule duodénale simple ont été utilisés. Ils ont été alimentés avec 1,2 kg/jour de foin de dactyle (2^e cycle) de qualité moyenne (12,6 % MAT) distribué sous forme hachée en 3 repas égaux régulièrement espacés.

Du tourteau d'arachide (47,8 % MAT), broyé à la grille de 2 mm, a été tanné par pulvérisation d'une solution (375 ml/kg de tourteau) à teneur croissante en extrait de tanins pour obtenir, après séchage à 50°C pendant 48 heures, 6 aliments contenant respectivement 0 - 0,5 - 1 - 5 - 10 - 20 % d'extrait de tanins par rapport aux MAT. La dégradabilité théorique de l'azote de ces aliments (DT₆) a été déterminée sur 3 moutons (Michalet-Doreau et al, 1987). Les résidus obtenus après 12 h d'incubation dans le rumen ont été produits en quantité supérieure, regroupés par aliment, séchés 48 h à 50°C et placés dans des petits sachets en nylon (porosité 48 µm, 300 mg/sachet). Ces sachets ont été incubés 2 h à 39°C dans une solution pepsique (1 g/l pepsine 1/1000 Sigma dans HCl 0,01 N), introduits dans le duodénum des 4 moutons (10 sachets de chaque aliment par animal) puis récupérés dans les fèces. Les résidus ont été regroupés par animal et par aliment pour le dosage de l'azote. Parallèlement, la teneur en azote soluble des 6 aliments a été déterminée par extraction dans une solution-tampon (bicarbonate-phosphate, pH 6,9) ; le dosage de l'azote soluble a été effectué après élimination de la phase particulaire soit par centrifugation soit par filtration sur le tissu utilisé pour confectionner les sachets de nylon.

2. RÉSULTATS

2.1. ESSAI 1 (TABLEAU 1)

Les résultats présentés dans le tableau 1 ne permettent pas de mettre en évidence des différences significatives en ce qui concerne les paramètres étudiés, du fait d'une variabilité importante des résultats notamment entre les 2 périodes expérimentales.

Le flux duodénal d'azote et notamment d'azote non ammoniacal, bien que non significativement différent entre les régimes suite à la variabilité entre animaux recevant l'extrait de tanins, a toutefois une nette tendance à être plus élevé chez les animaux recevant les tanins (P = 0,059), ce qui est aussi le cas pour la digestibilité apparente de l'azote dans les intestins (P = 0,057).

La concentration en ammoniacale dans le rumen n'est pas affectée par l'apport de tanins et ne révèle donc pas un effet protecteur de ces tanins vis-à-vis des protéines alimentaires pour la dose utilisée.

Il est intéressant de noter l'absence d'effet dépressif des tanins sur la digestibilité de la matière organique et de la lignocellulose, ainsi que sur la digestibilité de la matière organique dans l'estomac encore que pour ce paramètre, on enregistre une tendance à la diminution chez les animaux recevant les tanins.

2.2. ESSAI 2 (TABLEAU 2)

La proportion d'azote soluble du tourteau diminue fortement et de façon exponentielle lorsque la concentration en extrait de tanins augmente. La proportion d'azote filtré (résultats non présentés) suit la même évolution mais avec des valeurs de 10 à 15 points de pourcentage plus élevées. La DT₆ n'est significativement réduite qu'au-delà de la dose 5 %, l'effet résultant uniquement d'une diminution (P < 0,001)

Tableau 1

Influence des tanins de châtaignier sur la digestibilité d'un ensilage d'herbe préfané, quelques paramètres du rumen, le flux duodénal et la digestibilité intestinale de l'azote chez le taurillon ($\bar{x} \pm \sigma$)

	Témoin	Tanins	Signification statistique
Digestibilité fécale (%)			
- matière organique	76,1 ± 3,5	76,3 ± 3,7	NS
- matières azotées totales	73,5 ± 2,2	73,5 ± 2,9	NS
- lignocellulose	68,7 ± 4,1	69,7 ± 4,2	NS
Paramètres pré-estomacs			
- NH ₃ rumen (mg/l)	227,3 ± 23,1	247,0 ± 26,8	NS
- digestibilité matière organique (%)	54,9 ± 3,3	51,1 ± 4,5	NS
Flux duodénal (g/j)			
- azote total	177,6 ± 12,3	195,5 ± 23,8	P = 0,0681
- azote non ammoniacal	170,1 ± 11,2	187,1 ± 21,5	P = 0,0592
Digestibilité intestinale de l'azote (%)	62,9 ± 3,5	67,1 ± 2,4	P = 0,0572

NS : non significatif

de la vitesse de dégradation de l'azote, alors qu'à la dose 5 %, la solubilité de l'azote est réduite de 36 %. Le taux de disparition de l'azote des sachets mobiles dans l'intestin (appelé « digestibilité intestinale ») est un bon estimateur de la digestibilité réelle dans l'intestin grêle (Yang, 1991). Pour les faibles doses d'extrait de tanins (< 5 %), ce paramètre n'est pas modifié alors qu'aux doses supérieures, il diminue parallèlement à la DT₆. La quantité d'azote (x 6,25) du tourteau digérée dans l'intestin grêle (équivalente aux PDIA) a été estimée avec l'équation du système PDI, en utilisant la DT₆ et le taux de disparition de l'azote dans l'intestin. Rapportée aux protéines (N x 6,25) de l'aliment de départ, cette valeur PDIA est peu variable jusqu'à la dose 5 %. En revanche, elle augmente fortement entre les doses 5 et 10 %, puis de façon moins importante entre les doses 10 et 20 %, malgré une diminution (forte à la dose 20 %) du taux de disparition de l'azote (« digestibilité totale ») dans l'ensemble du tube digestif. Finalement, une dose d'extrait de tanins voisine de 10 % des MAT du tourteau (≅ 8 % de tanins) apparaît optimale pour accroître la digestion de l'azote alimentaire dans l'intestin sans trop pénaliser la digestibilité dans l'ensemble du tube digestif.

3. DISCUSSION

Les résultats très différents obtenus dans ces 2 expériences ne permettent pas de déterminer la dose optimale de tanin de châtaignier à utiliser pour améliorer la valeur PDIA des aliments chez le ruminant. Les deux essais sont d'ailleurs difficilement rapprochables, si ce n'est par la nature des tanins utilisés. De plus, ils ne fournissent pas d'éléments permettant d'analyser l'origine des divergences.

Contrairement aux mesures *in sacco* les bilans *in vivo* (essai 1) permettent d'intégrer les multiples effets potentiels des tanins. L'amélioration (P = 0,059) du bilan azoté observé à très faible dose d'extrait de tanins (0,4 % des MAT) et sans prétraitement de l'aliment est la réponse attendue d'un effet de protection des protéines alimentaires. Elle confirmerait alors les résultats obtenus en fermenteur de type « batch » par Mathieu et Jouany (1993) qui ont servi de référence pour le choix de la dose de tanins utilisée dans cet essai ; des doses de 0,4 et 2,2 % du même extrait de tanins par rapport aux MAT ont fortement réduit la fermentescibilité de l'azote d'un tourteau de soja (respectivement de 60 à 84 %) alors qu'une dose supérieure n'a plus d'effet, mais réduit la production d'AGV et de gaz. Ces mesures *in vitro* accentuent

Tableau 2

Effet d'un apport croissant de tanin de châtaignier sur la dégradabilité ruminale et la digestibilité intestinale de l'azote du tourteau d'arachide, estimées par la technique des sachets nylon

Extrait tannant (% de la MAT) :	0	0,5	1	5	10	20	Ecart type résiduel
Solubilité, % N total	50,0	48,6	44,9**	31,9***	19,7***	9,9***	1,13
Dégradabilité ruminale (DT ₆) ^a , %	80,6	80,9	79,1	78,4	69,0*	56,1**	1,43
Digestibilité intestinale ^b , %	93,2	92,1	91,4	92,0	87,9**	72,4***	1,32
PDIA ^c , % de la MAT	20,2	19,5	21,2*	22,1**	30,2***	35,2***	0,58
Digestibilité totale ^d , %	98,5	98,3	98,0	98,1	95,8**	86,6***	0,58

*, **, *** différence par rapport à la dose 0 ; P < 0,05, P < 0,01, P < 0,001

^a dégradabilité théorique pour $k_p = 0,06 \text{ h}^{-1}$ (mesuré *in sacco*), n = 3

^b taux de disparition de l'azote des sachets mobiles dans la partie post-ruminale, n = 4

^c calculé à partir de la DT₆ et du taux de disparition de l'azote des sachets mobiles, n = 4

probablement l'effet des tanins et ne permettent pas d'expliquer avec certitude leur mode d'action. En effet, les observations faites *in vivo* (essai 1) comme *in vitro* (Mathieu et Jouany, 1993) peuvent être attribuées à un effet d'inhibition partielle et sélective de l'activité enzymatique (notamment protéolytique) des bactéries qui favoriserait 1/ la captation des produits de la protéolyse pour la synthèse de protéines bactériennes – en ralentissant la vitesse de dégradation des protéines – 2/ l'évacuation des cellules microbiennes vers l'intestin grêle – en augmentant le flux de matière organique à la sortie du rumen. Cette hypothèse, émise également par Beever et Siddons (1985), serait à vérifier en différenciant au duodénum les flux azotés d'origine alimentaire et microbienne. Les résultats de l'essai 1 confirment ceux de 2 essais préliminaires (Théwis, non publié) montrant qu'à faible dose (0,3 à 0,4 % de la MAT) le même extrait de tanins avait tendance à accroître la rétention azotée de bœufs alimentés avec de l'herbe fraîche ou ensilée. Hartnell et Satter (1978) n'ont observé qu'un faible effet tannant d'une mélasse de bois (contenant 15 % de « polyphénols ») mélangée à raison de 10 % à un tourteau de soja, et aucun effet sur les paramètres fermentaires du rumen et la croissance d'agneaux recevant le tourteau tanné ou non. Avec la même mélasse, Thomas et al (1979a et b) observent au contraire une diminution *in vitro* de l'ammoniogénèse avec un tourteau de soja tanné avec 10 % de mélasse et une augmentation (+ 36 %) de la croissance de jeunes bovins.

Les travaux cités précédemment se distinguent de la plupart des études portant sur l'effet nutritionnel des tanins par la faible dose de tanin utilisé. Les travaux de l'équipe de Zelter (Zelter et al, 1970 ; Leroy et Zelter, 1970 ; Delort-Laval et al, 1972) mettent en jeu des doses d'extrait tannant (70 % de tanins) de châtaignier variant de 15 à 40 % des MAT de l'aliment traité. A ces doses, la digestibilité de la matière organique et la concentration en AGV dans le rumen ne sont pas modifiées, alors que la dégradabilité de l'azote dans le rumen et la rétention azotée sont augmentées. Drieger et Hatfield (1972) montrent que le tannage par l'acide tannique d'un tourteau de soja (à raison de 10 % de la MS de l'aliment) réduit de 90 % l'ammoniogénèse *in vitro*. Barry et al (1986) considèrent que, pour limiter les pertes d'azote au niveau du rumen, la teneur optimale en tanins condensés dans le Lotier se situe entre 16 et 20 % des MAT de ce fourrage.

Les mesures *in sacco* de l'essai 2 montrent que la diminution de dégradabilité ruminale des protéines du tourteau d'arachide n'est effective qu'au voisinage et au-delà de la dose 10 % des MAT. Ces valeurs sont dans la gamme des doses efficaces citées au paragraphe précédent, mais les données disponibles dans la littérature concernant l'effet des tanins hydrolysables sont peu nombreuses. En outre, les mesures *in sacco* ne mettent en évidence qu'un aspect des effets des tanins (protection des protéines) ; il est possible qu'aux doses efficaces *in sacco* pour le tannage des aliments, les tanins aient des effets négatifs sur d'autres paramètres digestifs et à d'autres niveaux voire des effets toxiques. Enfin l'incohérence entre l'évolution de la solubilité de l'azote et celle de la DT₆ pour les faibles doses de tanin est à souligner et confirme les observations de Endres et al (1995). Il est possible qu'une inhibition progressive de l'adhésion des bactéries aux particules dans les sachets masque une diminution de dégradabilité pour des faibles doses de tanins et que la dose optimale retenue en utilisant la technique des sachets soit surestimée.

4. CONCLUSION

Une faible dose d'extrait tannant (0,4 % de la MAT de la ration) ajouté à un ensilage d'herbe de bonne qualité tend à améliorer le bilan de la digestion de l'azote dans le rumen. L'origine de cet effet reste à expliquer. Compte tenu de la dose de tanins utilisée il semble d'avantage attribuable à une modification du métabolisme microbien de l'azote qu'à une protection des protéines alimentaires par les tanins. En effet, bien qu'il soit difficile de faire le lien entre les deux essais rapportés dans cet article, la dégradabilité ruminale *in sacco* d'un tourteau d'arachide n'est significativement diminuée qu'au-delà d'une dose de 5 % d'extrait tannant (/MAT). Cet effet positif s'accompagne d'une augmentation importante de la quantité d'AA alimentaires digérés dans l'intestin jusqu'à la dose de 10 %. Cette réponse devient plus faible au delà de 10 % d'extrait tannant, en raison d'une forte diminution de la digestibilité de l'azote alimentaire dans l'intestin.

REMERCIEMENTS

Ce travail a bénéficié d'un soutien financier de la part des sociétés ECOPSI - 62, Tilloy les Mofflaines (France), et Tanin International - 81290 Labrugière (France).

RÉFÉRENCES

- BARRY T.N., MANLEY T.R., DUNCAN S.J., 1986. Br. J. Nutr., 55, 123-137
- BEEVER D.E., SIDMONS R.C., 1985. In Milligan L.P., Grovum W.L. and Dobson A. (Editors). Control of Digestion and Metabolism in Ruminants. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ., 479-497.
- DELORT-LAVAL J., LEROY F., ZELTER S.Z., 1972. Ann. BIOL. Anim. Bioch. Biophys., 12(1), 179-185
- DRIEDGER A., HATFIELD E.E., 1972. J. Anim. Sci., 34(3), 465-468
- ENDRES M.I., JUNG H.G., STERN M.D., EHLKE N.J., 1995. J. Dairy Sci., 78 (suppl. 1), 273.
- HARTNELL G.F., SATTER L.D., 1978. J. Anim. Sci., 47(4), 935-943
- JONES G.A., McALLISTER T.A., MUIR A.D., CHENG K.J., 1994. Appl. Environ. Microbiol., 60(4), 1374-1378
- LEROY F., ZELTER S.Z., 1970. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 10(3), 401-412
- MAKKAR H.P.S., SINGH B., DAWRA R.K., 1988. Br. J. Nutr., 60, 287-296
- MATHIEU F., JOUANY J.P., 1993. Ann. Zootech., 42, 127
- MICHALET-DOREAU B., VERITE R., CHAPOUTOT P., 1987. Bull. Tech. CRZV Theix, INRA, 69, 5-7
- REED J.D., 1995. J. Anim. Sci., 73, 1516-1528
- THOMAS E., TRENKLE A., BURROUGHS W., 1979a. J. Anim. Sci., 49(5), 1337-1345
- THOMAS E., TRENKLE A., BURROUGHS W., 1979b. J. Anim. Sci., 49(5), 1346-1356
- WAGHORN G.C., SHELTON I.D., MacNABB W.C., MacCUTCHEON S.N., 1994. J. Agric. Sci., 123, 109-119
- YANG W.Z., 1990. Etude cinétique de la colonisation microbienne des aliments dans le rumen de mouton. Conséquences sur la compartimentation de la biomasse et sur la dynamique de sortie du rumen dans le cas de différents types de rations. Thèse Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand II, France.
- ZELTER S.Z., LEROY F., TISSIER J.P., 1970. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 10(1), 111-122
- ZIMMER N., CORDESSE R., 1996. Prod. Anim., 9(3), 167-179