

# Mise en évidence de la qualité des tanins de châtaignier pour améliorer les performances en élevage porcin

Charline RICHARD-DAZEUR (1), Philippe JACOLOT (1), Marine DE KONINCK (3), Marie Hélène DEGRAVE (4), Nelly BADALATO (2), Joris MICHIELS (5), Nicolas BARBEZIER (1), Céline NIQUET-LÉRIDON (1), Pauline M. ANTON (1)

(1) Transformations et Agroressources, ULR 7519, UniLaSalle – Université d'Artois, Beauvais, France

(2) GenoScreen, 1 rue du Pr Calmette, 59000 Lille, France

(3) Sanluc International nv, Langerbruggekaai 1, 9000 Gent, Belgique

(4) Algofit, 17 chemin du Christ, 59910 Bondues, France

(5) Ghent University, Department of Animal Sciences and Aquatic Ecology, Coupure Links 653, 9000 Gent, Belgique

*pauline.m-anton@unilasalle.fr*

## Highlighting of the quality of chestnut tannins to improve piglet performances

Chestnut tannins are rich in hydrolysable polyphenols. In piglets, the use of phenolic compounds is known to reduce weaning stress. Their antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial properties are known to improve piglet intestinal health, but these results seem to depend on the quality of the tannins used. In this study, we thus compared three chestnut tannins (A, B and C) of different geographical origins for several criteria: content of three major hydrolysable polyphenols (gallic acid, ellagic acid, and vescalagin), antioxidant capacity, content of total reduced sugars and of monosaccharides. Tannin B was significantly ( $P < 0.05$ ) richer in ellagic acid (9.9 mg/g) and gallic acid (36.2 mg/g) than Tannin A. Tannin C had less gallic acid (28.9 mg/g) but significantly ( $P < 0.05$ ) more vescalagin (61.9 mg/g) than Tannin B. The antioxidant capacity of Tannin B was significantly ( $P < 0.01$ ) higher than that of Tannin A. Tannin B had a higher content of reducing sugars in glucose equivalents (215.7 mg/g) than Tannin A (151.6 mg/g) and Tannin C (159.3 mg/g). These tannins were composed mainly of xylose and glucose, and their content was higher than that of Tannin A. The contents of hydrolysable polyphenols and sugars depended greatly on the origin (e.g., geographical area, climate) and process used to extract tannins (e.g. temperature). Due to such differences, this point could influence the effectiveness of these natural extracts when added to pig feed and could explain the variability in effectiveness of tannins on the digestive health of weaning piglets described in the literature.

## INTRODUCTION

Les tanins sont des extraits naturels considérés comme des alternatives fiables aux antibiotiques en élevage porcin. Les tanins de châtaignier sont de plus en plus utilisés car ils ont des propriétés anti-oxydantes et anti-microbiennes (Peña-Rodriguez *et al.*, 2015). Ces extraits produits par l'exploitation des bois de châtaignier sont naturellement riches en composés phénoliques hydrolysables et, en particulier, en gallotanins (dont l'acide gallique) et en ellagitanins (avec principalement l'acide ellagique et la vescalagine). Les sources d'approvisionnement en tanins de châtaignier étant nombreuses et les performances en élevage variables, nous avons décidé de comparer les teneurs en composés phénoliques de trois échantillons de tanins issus de trois zones géographiques européennes différentes afin de voir si ce paramètre pouvait influencer cette teneur puisque nous n'avons trouvé aucune donnée de la littérature en ce sens.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Réactifs

Les réactifs utilisés dans ce travail ont été obtenus auprès de Sigma-Aldrich (St Quentin Fallavier – France). Les trois échantillons de tanins de châtaignier ont été acquis auprès de trois fournisseurs européens différents. Les échantillons ont été stockés dans le noir à température ambiante avant les dosages.

### 1.2. Teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été mesurée à l'aide de la méthode de Folin-Ciocalteu après quelques adaptations (Singleton *et al.*, 1965). Brièvement, après extraction des polyphénols à l'aide d'une solution méthanol : eau, les échantillons ont été mis en présence du réactif de Folin-Ciocalteu. Après incubation, l'absorbance a été mesurée par spectrophotométrie (750 nm). La teneur en polyphénols totaux a été exprimée en mg d'équivalent acide gallique/g de tannin. Nous avons également mesuré les concentrations en trois polyphénols hydrolysables majeurs : acide gallique, acide

ellagique et vescalagine après solubilisation des échantillons dans une solution aqueuse par HPLC-UV. Après filtration, les extraits sont injectés (25 µL) dans le système HPLC U3000 (ThermoFisher, Courtaboeuf, France) équipé d'une pré-colonne et colonne C18 Luna (250 x 4,6 mm, 5 µm ; Phenomenex, Le Pecq, France) thermostatée à 40°C. Les éluants sont l'acide formique 0,05% (v/v) dans l'eau (A) et l'acétonitrile (B). Les deux phases mobiles sont éluées à un débit de 0,7 mL/min selon ce gradient : de 0 à 5 min 0 % B, de 5 à 25 min 5 % B, de 25 à 40 min 30 % B. La vescalagine, l'acide ellagique et l'acide gallique sont, respectivement, détectés et quantifiés à 234 nm, 250 nm et 280 nm (leur maximum d'absorption) à l'aide de molécules standards commerciales.

### 1.3. Pouvoir antioxydant

Le pouvoir antioxydant des tanins a été estimé par une méthode utilisant le 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH). Brièvement, les échantillons ont été mis en suspension dans l'eau avant de les centrifuger puis d'exposer les surnageants au DPPH. L'absorbance a été mesurée par spectrophotométrie (512 nm) (ThermoFisher, Courtaboeuf, France). Les résultats sont exprimés en IC50 (concentration pour laquelle une perte de 50% de l'activité du radical DPP° est observée). Plus l'IC50 est faible, plus l'activité anti-oxydante sera élevée.

### 1.4. Sucre totaux réducteurs

Les échantillons de tanins ont été dilués dans de l'eau distillée avant d'être soumis à une agitation. Un ajout de phénol 5% et d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré (97%) a été réalisé sur les surnageants. Après réaction de 30 minutes, les densités optiques (DO) ont été mesurées par spectrophotométrie (480 nm) (ThermoFisher, Courtaboeuf, France). Les mêmes extraits de tanins ont également été dilués dans une solution de méthanol puis filtrés et analysés par HPLC-DEDL (ThermoFisher, Courtaboeuf, France).

### 1.5. Analyses statistiques

Toutes les analyses ont été réalisées en triplicat (n = 3). Les données ont été exprimées en moyenne ± écart type à l'aide de Microsoft Excel (Office 2013). Les données ont été analysées à l'aide d'un test non paramétrique de Kruskal-Wallis suivi d'un post-test de Dunn lorsque les différences étaient significatives. Une valeur de P < 0,05 a été considérée comme significative.

## 2. RESULTATS

### 2.1. Teneur en polyphénols totaux et hydrolysables

La teneur en polyphénols totaux varie de façon non significative entre les différentes sources de tanins. La teneur la plus faible a été obtenue pour le tanin B (Tableau 1). En outre, grâce à une approche par HPLC-UV, nous avons pu établir qu'il existait de fortes différences dans la composition en polyphénols hydrolysables entre les différents tanins. Le Tanin B était le plus

riche en acide gallique et en acide ellagique (Tableau 1) mais contenait le moins de vescalagine. Le Tanin A était le moins riche en acides gallique et ellagique tandis que le tanin C avait la teneur la plus élevée en vescalagine (Tableau 1).

### 2.2. Pouvoir anti-oxydant

Des différences des pouvoirs antioxydants des différents tanins étaient plus ténues. Cependant, le tanin A, avec l'IC50 la plus basse, s'est révélé avoir le meilleur pouvoir antioxydant (Tableau 1).

### 2.3. Sucres totaux réducteurs et monosaccharides

La mesure de la teneur en sucres totaux réducteurs était indispensable pour nous assurer de limiter, autant que faire ce peu le risque de réaction de Maillard dans les ingrédients au cours du processus de préparation de l'aliment. Le tanin B était le plus riche en sucres totaux (Tableau 1). Ceci était notamment dû à une plus forte teneur (non présentée) en xylose et glucose de ce tanin. Les tanins A et C contenaient des quantités équivalentes de sucres totaux, 25% plus faibles que le tanin B (Tableau 1). Cependant, la teneur en xylose du tanin A était plus élevée que celle du tanin C (données non présentées).

**Tableau 1** – Caractérisation (moyenne ± écart-type) de tanins de châtaignier issus de trois zones géographiques différentes<sup>1</sup>

	Tan A	Tan B	Tan C
Polyphénols totaux, mg équiv. A.gall./g MS	524 ± 8	496 ± 16	523 ± 11
Pouvoir antioxydant, IC50	11,8 ± 0,1 <sub>b</sub>	13,4 ± 0,4 <sub>a</sub>	12,2 ± 0,1 <sub>ab</sub>
Sucres totaux réducteurs, mg équiv. Glc/g MS	152 ± 8	216 ± 0,1	159 ± 12
Acide gallique, mg/g MS	19,3 ± 0,4 <sub>b</sub>	36,2 ± 0,9 <sub>a</sub>	28,9 ± 0,5 <sub>ab</sub>
Acide ellagique, mg/g MS	3,8 ± 0,3 <sub>ab</sub>	9,9 ± 0,8 <sub>a</sub>	4,7 ± 0,3 <sub>b</sub>
Vescalagine, mg/g MS	25,4 ± 0,4 <sub>ab</sub>	9,3 ± 0,4 <sub>b</sub>	61,9 ± 0,4 <sub>a</sub>

<sup>1</sup>Pour une ligne donnée, les lettres différentes indiquent des différences significatives au seuil de 5%. MS : matière sèche, équiv. A.gall. : équivalent acide gallique, équiv. Glc : équivalent glucose.

## CONCLUSION

Les objectifs de ce travail étaient de déterminer des différences éventuelles entre des tanins de châtaignier de différentes origines et de déterminer celui qui serait le plus intéressant à valoriser dans l'alimentation des porcelets.

Les tanins A et C avaient des compositions globalement similaires sauf en polyphénols hydrolysables. Le tanin C possédait des teneurs en polyphénols meilleures. C'est pour cela qu'il est un bon candidat pour tester ses effets santé chez le porcelet en post-sevrage.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Peña-Rodríguez C., Martucci J.F., Neira L.M., Arbelaz A., Eceiza A., Ruseckaite R.A., 2015. Functional properties and *in vitro* antioxidant and antibacterial effectiveness of pigskin gelatin films incorporated with hydrolysable chestnut tannin. Food Sci. Technol. Int., 21, 221-231.
- Singleton V.L., Rossi J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Vitic., 16, 144-158.