

Évaluation de deux méthodes d'auto-tannage de fractions de tourteaux de tournesol et de colza enrichies en protéines et composés phénoliques par mesure de la dégradabilité ruminale des protéines *in vitro* [☆]

Laurent-Philippe Broudiscou^{1,*}, Oscar Laguna², Jérôme Lecomte², Véronique Solé-Jamault³ et Sylvie Dauguet⁴

¹ UMR MoSAR, AgroParisTech INRA, 75005 Paris, France

² CIRAD, UMR IATE, 34398 Montpellier, France

³ BIA, INRA, 44300 Nantes, France

⁴ Terres Inovia, 33318 Pessac, France

Reçu le 28 octobre 2019 – Accepté le 2 décembre 2019

Résumé – Deux méthodes de tannage des protéines ont été évaluées pour contribuer au remplacement du formaldéhyde comme agent tannant des tourteaux destinés à l'alimentation des ruminants. Les matériaux expérimentaux étaient deux fractions de tourteaux de colza et tournesol collectées à l'électrode positive d'un séparateur électrostatique, présentant des teneurs élevées en protéines et en composés phénoliques. Le but était de faire interagir les composés phénoliques et les protéines sans addition de tanins exogènes. Le traitement CH a consisté à incuber un mélange tourteau/eau (1/2, poids/poids) pendant 48 h à 50 °C. Le traitement FR a consisté à incuber un mélange tourteau/eau (1/10, poids/poids) à pH 9,0 pendant 48 h à 4 °C. La protéolyse des fractions de tourteau par les microbes du rumen a été quantifiée lors de fermentations *in vitro* de 24 h avec de la cellulose et de l'amidon comme sources d'énergie sans azote. Le traitement FR a eu tendance à réduire la production nette d'ammoniac, principalement avec le colza, équivalant à la protection de 8 % des protéines de tourteau de colza dégradables dans le rumen. La fraction de tournesol non traitée a diminué la production de méthane de 50 %, cependant les traitements ont restauré le profil fermentaire. Le traitement alcalin à froid pourrait être envisagé afin de protéger les protéines du tourteau de la dégradation par les micro-organismes du rumen.

Mots clés : tourteau de tournesol / tourteau de colza / auto-tannage / ruminant

Abstract – **Methods assessment of self-tanning of rapeseed and sunflower meal fractions enriched in proteins and phenolic compounds using *in vitro* measurement of protein rumen degradability.** Two protein tanning methods were evaluated to contribute to the withdrawal of formaldehyde as a tanning agent of meals for feeding ruminants. The experimental materials were two fractions of rapeseed and sunflower meals collected at the positive electrode of an electrostatic separator, presenting high contents in proteins and phenolic compounds. The objective was to make phenolics and proteins interact without addition of exogenous tannins. Treatment CH incubated a meal fraction:water mixture (1:2, w:w) for 48 h at 50 °C. Treatment FR incubated a meal fraction:water mixture (1:10, w:w) at pH 9.0 for 48 h at 4 °C. Microbial proteolysis on meal fractions were quantified during 24 h rumen batch fermentations with cellulose and starch as nitrogen-free energy sources. The net production of ammonia tended to be reduced by treatment FR mostly on rapeseed, corresponding to an 8% saving of rapeseed meal proteins degradable in the rumen. When untreated, the sunflower fraction decreased methane production by 50%, while treatments restored the

[☆] Contribution to the Topical Issue “Technological challenges in Oilseed crushing and refining / Défis technologiques de la trituration et du raffinage des oléagineux”

*Correspondance : laurent.broudiscou@agroparistech.fr

fermentation pattern. Cold alkaline treatment could be considered to protect meal proteins from degradation by rumen micro-organisms (la version anglaise de l'article est disponible sur <https://www.ocl-journal.org/10.1051/ocl/2019051>).

Keywords: rapeseed meal / sunflower meal / self-tanning / ruminant

1 Introduction

Dans la formulation des aliments pour ruminants en Europe, les tourteaux de colza et de tournesol ont été promus depuis 50 ans comme des sources d'acides aminés alternatives aux tourteaux de soja importés (Grenet et Demarquilly, 1970 ; Richardson *et al.*, 1981). Cependant, quelle que soit l'origine des tourteaux, il a fallu chercher à réduire la dégradation de leurs protéines par les microorganismes du rumen. En effet, la désamination ruminale des acides aminés est nutritionnellement défavorable à l'animal. Elle n'est qu'en partie compensée par la synthèse *de novo* de protéines microbiennes ce qui aboutit à une perte partielle de l'ammoniac issue de la désamination par excrétion d'urée. L'abaissement de la dégradabilité ruminale des protéines, initialement obtenu aussi par toastage (Grenet et Demarquilly, 1970), recourt principalement au tannage par le formaldéhyde qui réagit avec une dizaine d'acides aminés, principalement l'asparagine, la glutamine, la lysine et l'arginine, pour former des liaisons méthylène qui provoquent la réticulation des protéines (Barry, 1976 ; Verite *et al.*, 1977 ; Antoniewicz *et al.*, 1992). Ces liaisons sont ensuite hydrolysées en transitant du rumen à pH neutre vers l'abomasum en milieu acide. Bien que ce procédé a été jugé sans danger pour l'animal car la fraction de formaldéhyde restée libre est rapidement métabolisée dans le rumen en dioxyde de carbone (Puigserver *et al.*, 2004), la demande sociale pour des pratiques d'élevage les plus naturelles possibles et les risques associés à la manipulation du formaldéhyde lors du tannage ont favorisé la recherche d'agents tannants d'origine végétale, dans la continuité des travaux précurseurs sur les tanins hydrolysables de bois de châtaignier (Zelter *et al.*, 1970). Parmi les métabolites secondaires testés, les composés phénoliques présents dans la pellicule de graine de colza et dans son tourteau ont été étudiés pour leur action sur le métabolisme microbien dans le rumen sur la base de leur capacité d'interaction avec les protéines (Wischer *et al.*, 2013). Cependant le pouvoir tannant des composés phénoliques de colza est encore mal connu.

Par ailleurs, d'autres voies de valorisation des tourteaux de colza et de tournesol, comme potentielles sources de molécules bioactives entre autres, ont été étudiées (Hernandez-Jabalera *et al.*, 2015). Récemment, Laguna *et al.* (2018) ont évalué différentes techniques de séparation à sec sur leur capacité à isoler des fractions de tourteau enrichies en protéines ou en composés phénoliques en préalable à des procédés plus sélectifs. Ils ont établi que la séparation électrostatique permettait de récolter sur l'électrode positive des fractions présentant des teneurs en protéines et composés phénoliques supérieures à celles des tourteaux initiaux de 50–55 % et 80–100 % pour le colza et le tournesol, respectivement. De fait, ces fractions constituent des matériaux adéquats pour étudier la capacité de tannage des protéines par les composés phénoliques endogènes. En effet, utiliser cette éventuelle propriété

d'auto-tannage des tourteaux permettrait de limiter les quantités d'extraits tanniques mises en œuvre lors du tannage ou directement incorporées à la ration des ruminants.

L'abaissement de la dégradabilité des protéines par les tannins fait intervenir divers modes d'interaction qui peuvent être de nature covalente ou non (Chu *et al.*, 2018). Selon Hernandez-Jabalera *et al.* (2015), les tannins hydrolysables présents dans le tourteau de colza peuvent se complexer avec les protéines par des liaisons hydrogène de façon réversible. Le traitement tannant courant consiste à mélanger le tourteau avec au moins deux fois son poids d'eau durant au moins 20 h à température ambiante ou à chaud et de sécher le mélange à une température n'excédant pas 80 °C (Zelter *et al.*, 1970). Cependant, une deuxième voie de tannage à froid et en milieu alcalin pourrait exister. Récemment, Bongartz *et al.* (2018) ont montré que le traitement alcalin de tourteau de tournesol induit la formation de quinones d'acide chlorogénique qui réagissent avec les protéines du tourteau. Ce phénomène entraîne la réduction de la dégradation simulée de la protéine par les micro-organismes du rumen. Ce traitement alcalin a permis d'augmenter les valeurs de « protéines non dégradées par le rumen » (rumen and ruminally undegraded crude protein [RUP]) avec des facteurs allant d'environ 3 ($K_p = 0,08/h$) à 12 ($K_p = 0,02/h$). Des résultats similaires ont été obtenus au laboratoire (V. Solé-Jamault, communication personnelle). En soumettant la fraction de tourteau de tournesol collectée à l'électrode positive à une extraction à pH 9 pendant 48 h, un phénomène de réticulation a été observé sur des gels d'électrophorèse suggérant un tannage de ces protéines.

Notre étude vise à quantifier l'impact du traitement – à chaud ou à froid et à pH basique – sur la dégradabilité ruminale des protéines dans des fractions de tourteaux de colza et de tournesol enrichies en protéines et composés phénoliques. Une méthode d'analyse *in vitro* permet d'attribuer les variations de production d'ammoniac à la désamination des acides aminés présents dans les tourteaux. Les résultats ont été partiellement présentés sous forme d'affiche à l'International Rapeseed Congress tenu à Berlin en 2019.

2 Matériel et méthodes

2.1 Traitements des fractions

L'essai d'auto-tannage a été fait sur des fractions de tourteau de colza et de tournesol récoltées sur l'électrode positive d'un séparateur électrostatique (TEP System, Tribo Flow Separations, Lexington, USA) et comprenait deux étapes, un tannage préalable, selon deux méthodes décrites ci-dessous, et une évaluation de ce tannage par une incubation en présence de microbiote ruminal. Les conditions opératoires de la séparation électrostatique et la composition chimique des deux fractions sont décrites par Laguna *et al.* (2018). Les fractions ont été divisées chacune en 3 lots : témoin (TE),

prétraité à froid (FR) et prétraité à chaud (CH). Le prétraitement FR a été une maturation de 48 h minimum à 4 °C et à pH 9,0 par ajout de NaOH en récipient fermé. Le prétraitement CH a été le mélange de la fraction de tourteau à de l'eau désionisée (1:2, p:p) suivie d'une maturation de 48 h minimum à 50 °C en récipient fermé. Une étape de lyophilisation a permis de sécher les fractions.

2.2 Incubations

Trois chèvres tarées et porteuses d'une canule du rumen ont fourni le contenu de rumen nécessaire à l'ensemencement des tubes de culture lors de trois séries indépendantes. Les animaux étaient parqués sur une aire paillée dans une installation expérimentale agréée (n° B78-615-1002). Ils recevaient une ration de foin, d'orge et de complément minéral et vitaminique en deux repas par jour. Les procédures expérimentales étaient approuvées par le comité d'éthique local (COMETHEA n° 12079) et exécutées par des personnes accréditées. Dès le prélèvement, les contenus de rumen filtré (300 mL par animal) ont été transportés au laboratoire sous atmosphère de CO₂ et dans des récipients isothermes maintenus à 37–40 °C. Lors de chaque série, les incubations ont été faites en double dans des tubes de culture de 72 ml contenant 60 mg de cellulose, 40 mg d'amidon et 50 mg de fraction de tourteau. De plus, par série, 2 tubes ne contenant aucun substrat expérimental et appelés « blancs » ont été mis à incuber pour quantifier les produits de fermentation des substrats présents, en quantité inconnue, dans l'inoculum. Chaque tube de culture a reçu 10 mL de solution tampon Simplex de pH 6,7 ± 0,05 (Broudiscou et Lassalas, 2000), a été mis sous flux de CO₂ pendant 4 minutes pour purger l'espace de tête durant l'apport de 6 mL d'inoculum, avant d'être hermétiquement bouché et placé dans un bain-marie à agitation à 39 °C pour une durée de 24 h. Au sein d'une série d'incubation, l'ordre de préparation des tubes a été aléatoire. Les incubations ont été arrêtées au bout de 24 h (±5 minutes) par refroidissement des tubes à +4 °C pendant au moins 30 minutes, avant toute mesure ou prélèvement. La quantité et la composition du gaz de fermentation ont été ensuite mesurées. Après mesure du pH, le milieu de fermentation a été échantillonné (1,2 mL mélangé à 0,3 mL d'acide ortho-phosphorique 25 % v/v, en double) pour mesurer les concentrations d'acides gras à chaîne courte (AGCC) et d'ammoniac. Tous les échantillons ont été immédiatement congelés et conservés à –21 °C jusqu'à analyse. Les inoculums ont été échantillonnés selon une procédure identique pour déterminer leurs concentrations d'AGCC.

2.3 Analyses

La concentration d'ammoniac dans les milieux de culture et les inoculums a été mesurée à l'aide d'une électrode spécifique (Broudiscou et Papon, 1994). Dans les milieux de culture et les inoculums préalablement centrifugés (10 min à 10 000 g), les AGCC ont été séparés par CLHP en phase inverse (colonne C18 ultra-aqueous de 4,6 × 150 mm, 3 µm, gradient acétonitrile–tampon phosphate 50 mM pH 2,0) et leurs concentrations ont été quantifiées par spectrophotométrie avec un détecteur à barrette de diode (lecture à 210 nm, Jasco, Lisses France). La composition des gaz de fermentation a été

mesurée par CPG (Varian, MicroGC) (Broudiscou *et al.*, 2014).

2.4 Calculs et analyses statistiques

Les productions individuelles d'AGCC, de gaz et d'ammoniac attribuées à la fermentation du substrat expérimental et utilisées par la suite ont été calculées par différence entre les quantités mesurées en fin d'incubation dans le tube contenant le substrat expérimental et dans les « blancs » de la même série.

La quantité d'hexoses fermentés par tube (HF) a été calculée selon la formule proposée par Demeyer et Van Nevel (1975) :

$$HF = (PC2 + PC3) / 2 + PC4 + PC5 (\mu \text{ moles} / \text{tube}), \quad (1)$$

où PC2, PC3, PC4 et PC5 sont les quantités d'acétate, propionate, butyrate et valérate produites par tube en 24 h.

La production spécifique PS de chaque AGCC est calculée selon la formule :

$$PS = 100 \times \text{quantité produite} / HF (\mu \text{ moles} / 100 \mu \text{ moles HF}). \quad (2)$$

Pour chaque tourteau, les variables ont été soumises à une analyse de variance à l'aide de la procédure GLM du logiciel SAS 9.1 (SAS/STAT[®], 2000). Les moyennes par tannage ont été comparées à la moyenne des témoins par le test de Dunnett. Afin de limiter l'erreur de première espèce totale à 0,05 pour les différences significatives et 0,10 pour les écarts en tendance, les seuils de signification et de tendance ont été fixés à $P < 0,025$ et $P < 0,05$.

3 Résultats et discussion

Dans les incubations de tourteau de colza (Tab. 1), l'intensité des fermentations de la cellulose et de l'amidon, mesurée par la variable HF, et leur profil ont été normaux, avec une prédominance de la production d'acétate sur le propionate et le butyrate ainsi qu'une méthanogenèse efficace qui a fortement limité la présence de dihydrogène. Aucune méthode de tannage n'a modifié, même en tendance, les variables fermentaires. Les productions nettes d'ammoniac et d'isovalérate – produit par la décarboxylation des chaînes carbonées de la leucine et de l'isoleucine (Demeyer et Van Nevel, 1979) – ont été négatives (Tab. 2), ce qui indique que les fermentations associées au substrat expérimental ont induit une consommation d'ammoniac par les micro-organismes supérieure à sa libération. Le prétraitement à froid (FR) a eu tendance à accroître cette différence, alors que le prétraitement à 50 °C (CH) n'a pas eu d'effet même en tendance. L'effet du prétraitement FR peut être attribué à une moindre dégradation des protéines du tourteau de colza, donc une action de tannage, plutôt qu'à une stimulation de la synthèse de protéines microbiennes. En effet, le pH final du milieu de fermentation a été supérieur à 6,0 et n'a pas varié entre traitements. L'ATP issu des fermentations a donc été utilisé pour fournir l'énergie nécessaire à la croissance microbienne et non pour maintenir

Tableau 1. Quantités d'hexoses fermentés (HF) et productions spécifiques de métabolites terminaux à partir du substrat expérimental contenant la fraction de tourteau de colza.

	HF	C2	C3	C4	CH ₄	H ₂	H ₂ S
	μmoles			moles /100 moles d'hexoses fermentés			
Pr > F model	0,16	0,16	0,048	0,092	0,051	0,50	0,14
R ²	0,75	0,74	0,87	0,81	0,86	0,50	0,77
ETR	31,6	2,84	4,86	1,85	2,32	0,041	3,15
Source	Probabilités Pr > F						
Traitement	0,11	0,93	0,80	0,76	0,85	0,91	0,67
Inoculum	0,26	0,067	0,018	0,037	0,019	0,27	0,059
Traitement	Moyennes par traitement (N=3)						
FR	446 (0,17)	91,5 (1,00)	63,3 (0,80)	22,6 (0,70)	30,9 (0,93)	0,078 (0,96)	25,8 (0,83)
CH	517 (0,75)	90,7 (0,93)	65,8 (1,00)	21,8 (0,97)	29,8 (0,96)	0,085 (0,87)	28,2 (0,89)
TE	499	91,4	65,6	21,5	30,3	0,070	27,1

C2 : acétate ; C3 : propionate ; C4 : butyrate ; ETR : écart-type résiduel ; comparaison des tannages (FR et CH) au témoin (TE) : les probabilités d'erreur de première espèce sont entre parenthèses.

Tableau 2. Productions nettes d'ammoniac (mg/tube) et d'isovalérate (μmoles/tube) à partir de la fraction de tourteau de colza et pH final du milieu fermentaire.

	NH ₃	IC5	pH 24 h
Pr > F model	0,0083	0,21	0,0003
R ²	0,95	0,71	0,99
ETR	0,092	8,97	0,025
Source	Probabilités Pr > F		
Traitement	0,011	0,60	0,82
Inoculum	0,0095	0,10	0,0001
Traitement	Moyennes par traitement (N=3)		
FR	-0,622 (0,033)	-8,0 (0,71)	6,08 (0,93)
CH	-0,194 (0,20)	-5,7 (0,53)	6,08 (0,76)
TE	-0,339	-13,4	6,09

IC5 : iso-valérate ; ETR : écart-type résiduel ; comparaison des tannages (FR et CH) au témoin (TE) : les probabilités d'erreur de première espèce sont entre parenthèses.

un pH intracellulaire neutre (Strobel et Russell, 1986). Nos observations fondées sur un test biologique implémentant l'activité du microbiote ruminal étendent au tourteau de colza les conclusions de Bongartz *et al.* (2018) qui ont mesuré par une méthode enzymatique une baisse de la protéolyse dans un tourteau de tournesol traité.

Dans les incubations témoin (TE) de tourteau de tournesol (Tab. 3), l'intensité des fermentations des hydrates de carbone a été normale. Cependant, leur profil a été caractérisé par des productions spécifiques d'acétate et de méthane diminuées, au profit du propionate et du disulfure d'hydrogène, et accompagnées d'une légère accumulation de dihydrogène. La fraction de tournesol non traitée pourrait avoir perturbé le métabolisme des archées méthanogènes, cette réduction de la méthanogenèse impactant l'activité des bactéries cellulolytiques et productrices d'acétate, *via* la régénération de leurs cofacteurs NAD et NADP qui exige une faible pression partielle de dihydrogène (Baldwin et Allison, 1983). Dans ce contexte, l'augmentation des productions spécifiques de propionate et de disulfure d'hydrogène peut être interprétée

comme un piégeage alternatif de dihydrogène. Les acides gras polyinsaturés contenus dans la graine de tournesol – majoritairement l'acide linoléique – ne peuvent être la cause de cette baisse de la méthanogenèse car le tourteau soumis à la séparation électrostatique a été préalablement délipidé à une teneur finale de 2% MS (Laguna *et al.*, 2018). Le ou les constituants inhibiteurs sont probablement des composés phénoliques (Mueller-Harvey, 2006). Onze composés phénoliques, parmi lesquels l'acide chlorogénique dont l'activité antibactérienne a été observée en cultures pures (Lou *et al.*, 2011), ont été détectés dans la fraction de tournesol (Laguna *et al.*, 2018) mais leurs effets sur les archées méthanogènes ne sont pas documentés. Le prétraitement FR a légèrement réduit l'intensité des fermentations. Plus surprenant, les deux prétraitements ont rétabli des profils fermentaires normaux, caractérisés par une méthanogenèse active et une faible présence de dihydrogène et proches de ceux observés avec le tourteau de colza, ce qui suggère qu'ils ont inactivé le composant de la fraction de tourteau responsable de l'inhibition partielle des méthanogènes.

Tableau 3. Quantités d'hexoses fermentés (HF) et productions spécifiques de métabolites terminaux à partir du substrat expérimental contenant la fraction de tourteau de tournesol.

	HF	C2	C3	C4	CH ₄	H ₂	H ₂ S
	μmoles			moles /100 moles d'hexoses fermentés			
Pr > F model	0,011	0,034	0,029	0,30	0,058	0,42	0,025
R ²	0,94	0,89	0,90	0,64	0,85	0,56	0,91
ETR	14,8	4,36	4,10	1,59	5,57	0,91	10,2
Source	Probabilités Pr > F						
Traitement	0,0045	0,037	0,057	0,61	0,039	0,37	0,0092
Inoculum	0,14	0,043	0,022	0,16	0,13	0,39	0,66
Traitement	Moyennes par traitement (N=3)						
FR	447 (0,0088)	89,1 (0,055)	64,1 (0,093)	23,4 (0,58)	31,0 (0,033)	0,10 (0,37)	19,5 (0,0065)
CH	533 (0,33)	91,3 (0,032)	61,6 (0,047)	23,5 (0,62)	28,3 (0,057)	0,10 (0,37)	36,7 (0,028)
TE	514	77,7	73,0	24,7	13,9	1,14	70,0

C2 : acétate ; C3 : propionate ; C4 : butyrate ; ETR : écart-type résiduel ; comparaison des tannages (FR et CH) au témoin (TE) : les probabilités d'erreur de première espèce sont entre parenthèses.

Tableau 4. Productions nettes d'ammoniac (mg/tube) et d'isovalérate (μmoles/tube) à partir de la fraction de tourteau de tournesol et pH final du milieu fermentaire.

	NH ₃	IC5	pH
Pr > F model	0,019	0,0079	0,0059
R ²	0,92	0,95	0,95
ETR	0,183	4,54	0,052
Source	Probabilités Pr > F		
Traitement	0,020	0,072	0,26
Inoculum	0,026	0,0037	0,0022
Traitement	Moyennes par traitement (N=3)		
FR	0,15 (0,070)	-14,8 (0,064)	6,16 (0,51)
CH	0,88 (0,20)	-12,6 (0,11)	6,12 (0,20)
TE	0,59	-3,3	6,21

IC5 : iso-valérate ; ETR : écart-type résiduel ; comparaison des tannages (FR et CH) au témoin (TE) : les probabilités d'erreur de première espèce sont entre parenthèses.

Aucun prétraitement n'a significativement modifié la production nette d'ammoniac (Tab. 4) et d'isovalérate. La hiérarchie entre fractions a néanmoins été semblable à celle qui a été observée avec le tourteau de colza, le prétraitement FR étant associé à la production d'ammoniac la plus faible, en accord avec les résultats de Bongartz *et al.* (2018).

En conclusion, seul le prétraitement à froid et en milieu alcalin a tendu à diminuer la protéolyse microbienne des fractions de tourteau (principalement pour le tourteau de colza), dans une proportion trop faible pour présenter un avantage nutritionnel en alimentation des ruminants. Par ailleurs, la méthanogenèse a été réduite en présence de la fraction de tournesol non traitée, suggérant l'action inhibitrice d'un composé phénolique qu'il reste à identifier.

Remerciements. Ce travail a été réalisé, en partenariat avec la SAS PIVERT, dans le cadre de l'Institut pour la transition énergétique (ITE) P.I.V.E.R.T. (www.institut-pivert.com). Ce travail a été soutenu, en tant qu'Investissement d'Avenir, par le gouvernement français sous la référence ANR-001-01.

Conflicts d'intérêts. Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

Références

- Antoniewicz AM, Vanvuuren AM, Vanderkoelen CJ, Kosmala I. 1992. Intestinal digestibility of rumen undegraded protein of formaldehyde-treated feedstuffs measured by mobile bag and *in vitro* technique. *Anim Feed Sci Technol* 39: 111–124.
- Baldwin RL, Allison MJ. 1983. Rumen metabolism. *J Anim Sci* 57: 461–477.
- Barry TN. 1976. Effectiveness of formaldehyde treatment in protecting dietary-protein from rumen microbial-degradation. *Proc Nutr Soc* 35: 221–229.
- Bongartz V, Bottger C, Wilhelmy N, Schulze-Kaysers N, Sudekum KH, Schieber A. 2018. Protection of protein from ruminal degradation by alkali-induced oxidation of chlorogenic acid in sunflower meal. *J Anim Physiol Anim Nutr* 102: E209–E215.
- Broudiscou LP, Papon Y. 1994. Quantification of ammonia in rumen and fermenter fluid samples by a gas-sensing electrode. *Reprod Nutr Dev* 34: 193–200.

- Broudiscou LP, Lassalas B. 2000. Effects of *Lavandula officinalis* and *Equisetum arvense* dry extracts and isoquercitrin on the fermentation of diets varying in forage contents by rumen microorganisms in batch culture. *Reprod Nutr Dev* 40: 431–440.
- Broudiscou LP, Offner A, Sauvant D. 2014. Effects of inoculum source, pH, redox potential and headspace di-hydrogen on rumen *in vitro* fermentation yields. *Animal* 8: 931–937.
- Chu Q, Bao B, Wu W. 2018. Mechanism of interaction between phenolic compounds and proteins based on non-covalent and covalent interactions. *Med Res* 2(3): 180014.
- Demeyer DI, Van Nevel CJ. 1975. Methanogenesis, an integrated part of carbohydrate fermentation and its control. In: McDonald IW, Warner ACI, eds. Digestion and metabolism in the ruminant. Armidale: University of New England Publishing Unit, pp. 366–382.
- Demeyer D, Van Nevel C. 1979. Protein fermentation and growth by rumen microbes. *Ann Rech Vet* 10: 277–279.
- Grenet N, Demarquilly C. 1970. Rapeseed oil-meal in animal feeding .2. Study feeding value for ruminants, effect of processing method. *Ann Zoot* 19: 269–277.
- Hernandez-Jabalera A, Cortes-Giraldo I, Davila-Ortiz G, *et al.* 2015. Influence of peptides-phenolics interaction on the antioxidant profile of protein hydrolysates from *Brassica napus*. *Food Chem* 178: 346–357.
- Laguna O, Barakat A, Alhamada H, *et al.* 2018. Production of proteins and phenolic compounds enriched fractions from rapeseed and sunflower meals by dry fractionation processes. *Ind Crops Prod* 118: 160–172.
- Lou ZX, Wang HX, Zhu S, Ma CY, Wang ZP. 2011. Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid. *J Food Sci* 76: M398–M403.
- Mueller-Harvey I. 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *J Sci Food Agric* 86: 2010–2037.
- Puigserver A, Andrieu JP, Bories G, Paragon BM, Warnet JM. 2004. Évaluation des risques liés à l'utilisation du formaldéhyde en alimentation animale. Maison-Alfort: AFSSA, p. 25.
- Richardson CR, Beville RN, Ratcliff RK, Albin RC. 1981. Sunflower meal as a protein-supplement for growing ruminants. *J Anim Sci* 53: 557–563.
- Sas/Stat[®]. 2000. User's guide. Release 11.04. Cary: SAS Institute, Inc.
- Strobel HJ, Russell JB. 1986. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. *J Dairy Sci* 69: 2941–2947.
- Verite R, Poncet C, Chabi S, Pion R. 1977. Utilization of formaldehyde treated oil-meals by dairy-cows .1. Digestive aspects. *Ann Zoot* 26: 167–181.
- Wischer G, Boguhn J, Steingass H, Schollenberger M, Rodehutschord M. 2013. Effects of different tannin-rich extracts and rapeseed tannin monomers on methane formation and microbial protein synthesis *in vitro*. *Animal* 7: 1796–1805.
- Zelter SZ, Leroy F, Tissier JP. 1970. Protection of proteins in feed against bacterial deamination in rumen .1. Studies *in vitro*—behaviour in rumen of some proteins tanned with tannin from chestnut wood or certain aldehydes (formaldehyde, glutaraldehyde, glyoxal). *Ann Biol Anim Bioch Biophys* 10: 111–122.

Citation de l'article : Broudiscou L-P, Laguna O, Lecomte J, Solé-Jamault V, Dauguet S. 2020. Évaluation de deux méthodes d'auto-tannage de fractions de tourteaux de tournesol et de colza enrichies en protéines et composés phénoliques par mesure de la dégradabilité ruminale des protéines *in vitro*. *OCL*, <https://doi.org/10.1051/ocl/2019051>