

Valeur alimentaire des marcs de raisin.

III. - Rôle des tanins condensés dans la faible valeur nutritive des marcs de raisin chez le mouton : effet d'une addition de polyéthylène glycol 4 000

A. LARWENCE, Fatma HAMMOUDA et Amel SALAH

avec la collaboration technique de Samia ABADA et Nacéra OUCHAÏ

*Institut national agronomique, Département de Zootechnie
El-Harrach (Algérie)*

Résumé

Pour vérifier que les tanins des marcs de raisin (5 p. 100 de la M.S.) sont libérés dans le rumen au cours du processus de digestion, nous avons prélevé sur des moutons porteurs de fistule du rumen consommant cet aliment *ad libitum* 100 ml de jus de rumen sur lesquels le dosage des tanins est effectué. Il ressort que, au cours du nyctémère, la concentration du jus en tanins se situe en moyenne à 2 mg par ml. Ces tanins apportés *in vitro* respectivement à la dose de 10 mg, 20 mg et 30 mg déprécie très fortement la digestibilité du tourteau de soja pour un temps d'incubation de 8 heures ou de 24 heures.

L'addition d'une quantité de polyéthylène glycol 4 000 (PEG 4 000) dans un rapport

$\frac{\text{PEG 4 000}}{\text{tanins}}$ de $\frac{1}{2}$; $\frac{1}{4}$ et $\frac{1}{6}$ respectivement pour la dose de tanins de 10 mg, 20 mg

et 30 mg rétablit la digestibilité du tourteau de soja mais de façon plus nette pour le temps d'incubation de 24 h.

Cette action inhibitrice du PEG 4 000 sur les tanins se vérifie *in vivo* puisque, des rations de marc (4 kg par jour) complémentées avec 5 g, 10 g et 20 g de PEG 4 000 voient la digestibilité de leur matière organique passer de 31 à 39 p. 100 et celle de leur azote de 10 à 29 p. 100.

La dose de 20 g de PEG 4 000 permet aux animaux de maintenir leur poids; mais, compte tenu du coût élevé d'un kg de M.S. de marc ainsi complémenté (0,65 franc français), ce procédé n'est pas recommandable, d'un point de vue économique.

Mots clés : marcs de raisin, tanins condensés, digestibilité, PEG 4 000, mouton.

I. Introduction

La faible digestibilité de la matière organique des marcs de raisin est mise en évidence dès 1909 par FABRE qui l'évalue à 33 p. 100. Les travaux qui ont suivi :

MAYMONE & PETRUCCI (1945); SARTI (1970); SANCHEZ, VIZCAINO & SMILG (1971); ECONOMIDES & HADJIDEMETRIOU (1974); HADJIPANAYIOTOU & LOUCA (1976); REYNE & GARAMBOIS (1977); DUMONT & TISSERAND (1979); MESSAOUDI (1982) le confirment puisque la digestibilité mesurée par l'ensemble de ces auteurs se situe à 31 p. 100 \pm 8 pour la matière organique et seulement à 15 p. 100 \pm 6 pour l'azote.

Le déficit en azote fermentescible (LARWENCE & BERTHE, 1981; LARWENCE & YAHIAOUI, 1983) et la teneur élevée en composés pariétaux des marcs (LARWENCE, HAMMOUDA & GAOUAS, 1983) représentent deux facteurs de leur faible digestibilité. Cependant, compte tenu de la concentration élevée des marcs de raisin en tanins condensés (5 p. 100 de la matière sèche selon LARWENCE, 1983), souvent cités comme éléments perturbateurs de la valeur nutritive des aliments (Revue de MCLEOD, 1974). Ces substances pourraient constituer un troisième facteur de la faible digestibilité du produit si elles sont réellement libérées dans le rumen.

On pourrait alors penser qu'une addition de PEG 4 000 (polyéthylène glycol 4 000), composé ayant une grande affinité pour les tanins (JONES & HULME, 1961; HEWITT & FORD, 1982) inhiberait leur action, améliorant du même coup la digestibilité du produit.

II. Matériel et méthode

A. Mise en évidence de la libération des tanins (ou Leucoanthocyanidines) dans le rumen

Nous avons prélevé à jeûn sur trois moutons porteurs d'une fistule du rumen consommant en plat unique et *ad libitum* des marcs de raisin épuisés et ensilés (l'adaptation au régime dure trois semaines) 100 ml de jus de rumen toutes les trois heures (après le repas) au cours du nyctémère. Après addition de 2 ml d'acide chlorhydrique 12 N (pour libérer les tanins des complexes tanins-protéines), 10 ml sont prélevés et centrifugés pendant 15 minutes à 10 000 G; le surnageant est mis à sec sous vide, le résidu est repris dans 5 ml de méthanol. L'isolement des tanins est alors effectué selon la méthode préconisée par LARWENCE (1983); précipitations successives à l'aide d'acétate d'éthyle, d'éther éthylique et de chloroforme.

B. Identification et degré de polymérisation des tanins isolés du jus de rumen

Trois ml d'une solution aqueuse des tanins (20 mg dans 100 ml d'eau) sont soumis à deux réactions caractéristiques mesurées à 500 nm.

La première repose sur la transformation des leucoanthocyanidines en anthocyanidines colorées (valeur LA) par un chauffage en milieu acide (SWAIN & HILLIS, 1959). La seconde repose sur la formation d'une combinaison colorée avec la vanilline

en milieu acide (grandeur V). Le rapport $\frac{V}{LA}$ indique selon GOLDSTEIN & SWAIN

(1963) le degré de polymérisation des molécules de tanins (elles sont d'autant plus polymérisées que la valeur du rapport est faible).

C. *Mesure de l'effet anti-nutritionnel des tanins isolés du jus de rumen :
action du polyéthylène glycol 4 000*

Nous avons mesuré *in vitro* en présence de différentes concentrations de tanins (2 p. 100 ; 4 p. 100 et 6 p. 100 du tourteau de soja) la digestibilité de la matière sèche du tourteau de soja 50 durant deux temps d'incubation (8 heures et 24 heures), selon la première phase de la méthode de TILLEY & TERRY (1963). Ces essais sont menés avec ou sans addition de PEG 4 000 (1 p. 100 du poids du tourteau de soja incubé, soit 5 mg).

D. *Effet d'une addition de PEG 4 000 sur la digestibilité in vivo
des marcs de raisin*

La méthode de mesure de la digestibilité *in vivo*, les analyses chimiques ainsi que la préparation des ensilages sont décrites par LARWENCE & YAHAIOUI (1983). Dans le présent essai, les marcs de raisin sont distribués sans complémentation à raison de 4 kg par animal (pesant en moyenne 44 kg) et par jour (aucun refus n'est constaté). Le PEG 4 000 apporté à la concentration de 5 g, 10 g et 20 g par jour est intimement mélangé aux marcs de raisin (soit respectivement, 0,28 p. 100, 0,56 p. 100 et 1,13 p. 100 de la matière sèche ingérée).

III. Résultats

A. *Teneur en tanins du jus de rumen au cours du nyctémère*

Les tanins condensés que renferment les marcs de raisin sont bien libérés dans le rumen au cours du processus de fermentation du produit dans cette poche (fig. 1). Au cours du nyctémère, la quantité de tanins dosée dans le jus de rumen est variable, elle dépend du moment du prélèvement ; elle est maximum à jeûn et minimum durant les heures de repas et d'abreuvement ; ces différences sont liées à l'état de dilution du contenu du rumen. En moyenne, cette teneur représente environ 2 mg par ml de jus de rumen (tabl. 1).

La valeur LA, la valeur V et le rapport $\frac{V}{LA}$ sont indiqués dans le tableau 1.

L'indice de polymérisation des molécules de tanins extraits du jus de rumen est deux fois plus faible que celui rapporté par RIBEREAU-GAYON (1966) et GLORIES (1978) pour des tanins extraits du vin et pour lesquels ce dernier auteur attribue un poids moléculaire d'environ 2 000. Il est donc probable que le poids moléculaire des tanins libérés dans le rumen soit plus élevé, ce qui serait conforme aux observations de RIBEREAU-GAYON (1966) selon lesquelles, le solvant eau (le milieu du rumen est riche en eau) extrait des formes de tanins plus polymérisées que le solvant alcoolique (éthanol) que GLORIES (1978) a utilisé.

TABLEAU 1

*Concentration moyenne du jus de rumen en tanins condensés
et réactions caractéristiques des leucoanthocyanidines.*

Tannin content of rumen fluid and leucoanthocyanidin vanillin reactions.

Teneur en tanins du jus de rumen (mg/ml)	2,2 ± 1,4
<i>Tannin content of rumen fluid (mg/ml)</i>	
Réaction des leucoanthocyanidines (LA)	0,10 ± 0,02
<i>Leucoanthocyanidin reaction (LA)</i>	
Réaction à la vanilline (V)	0,04 ± 0,001
<i>Vanillin reaction (V)</i>	
V	
— (Indice de polymérisation des tanins)	0,40
<i>LA (Polymerisation index of tannins)</i>	

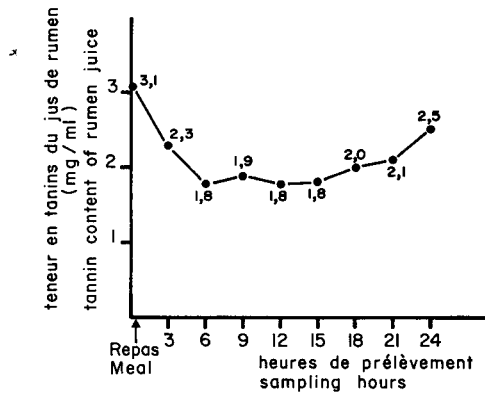


FIG. 1

Variations de la teneur en tanins du jus de rumen au cours du nycthémère.

Tannin content of rumen fluid : variations during the 24 h cycle.

B. *Effet de différentes concentrations de tanins extraits du jus de rumen sur la digestibilité in vitro de la matière sèche du tourteau de soja : influence du PEG 4 000*

La concentration de tanins dans le milieu d'incubation représente environ 0,2 mg, 0,4 mg et 0,6 mg par ml respectivement pour la dose de 10 mg, 20 mg et 30 mg

(2 p. 100, 4 p. 100 et 6 p. 100) du tourteau de soja incubé. Les résultats rassemblés sur la figure 2 montrent que la digestibilité *in vitro* de la matière sèche du tourteau de soja diminue en présence des tanins extraits du jus de rumen. La diminution est linéaire et d'autant plus importante que la dose de tanins est forte ; elle est de la même importance entre la dose de 0 p. 100 et de 6 p. 100 (— 14 points) que le temps d'incubation soit de 8 heures ou de 24 heures. La différence de digestibilité par rapport à 0 p. 100 de tanins est significative ($P < 0,01$) pour les deux temps d'incubation à partir de la dose de tanins de 4 p. 100.

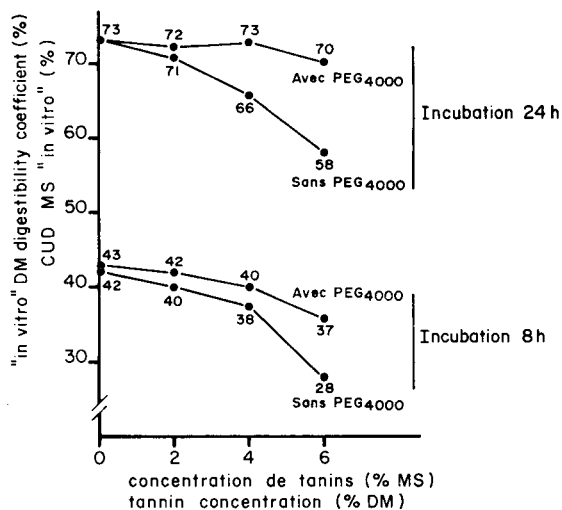


FIG. 2

Evolution de la digestibilité in vitro de la M.S. du tourteau de soja en présence de différentes concentrations de tanins : action du PEG 4 000 (5 mg).

In vitro digestibility of soyabean dry matter in the presence and in the absence of tannins : influence of supplementary PEG 4 000 (5 mg).

L'addition d'une quantité de PEG 4 000 correspondant à 1 p. 100 du poids du tourteau de soja incubé (soit 0,1 mg/ml de milieu d'incubation) établit le rapport

$\frac{\text{PEG 4 000}}{\text{tanins}}$ à 1/2, 1/4 et 1/6 respectivement pour la dose de tanins de 2 p. 100,

4 p. 100 et 6 p. 100. Ces différents rapports rétablissent totalement le niveau de digestibilité du tourteau de soja pour le temps d'incubation de 24 heures ($P < 0,05$) et de façon partielle pour le temps d'incubation de 8 heures mais seulement pour le

rapport $\frac{\text{PEG 4 000}}{\text{tanins}}$ de 1/6 ($P < 0,05$) (fig. 2). L'action du PEG 4 000 serait donc

assez longue (plus de 8 heures) lorsque la concentration de tanins est forte par rapport à celle du PEG 4 000.

C. Influence du PEG 4 000 sur la digestibilité in vivo des marcs de raisin

Les résultats consignés dans le tableau 2 montrent que l'addition de différentes doses de PEG 4 000 dans les rations de marcs distribuées en plat unique améliore la digestibilité de la matière organique qui passe de 31 à 39 p. 100 ($P < 0,01$) lorsque la dose de PEG 4 000 passe de 0 à 20 g (0 p. 100 à 1,12 p. 100 de la matière sèche ingérée).

TABLEAU 2

*Composition chimique des marcs de raisin ;
influence du PEG 4 000 sur la digestibilité et variations du poids des animaux.*

*Chemical composition of grape marc ;
influence of PEG 4 000 on the apparent digestibility and weight gain variation.*

Composition chimique (% MS) Chemical composition (% DM)	Digestibilité (%) - Digestibility (%)			
	Dose de PEG 4 000 (g) - PEG 4 000 added (g)			
	0	5	10	20
Matière sèche corrigée 43,8 <i>Corrected dry matter</i>	29,8 ± 2,0	30,8 ± 2,6	31,7 ± 2,1	37,4 ± 2,4
Matière organique 94,0 <i>Organic matter</i>	31,1 ± 2,1	31,7 ± 2,4	33,8 ± 2,2	38,7 ± 2,6
Cellulose - <i>Weende</i> 25,2	27,4 ± 3,4	28,3 ± 2,1	28,7 ± 1,8	30,3 ± 1,7
Matières azotées 15,2 <i>Crude protein</i>	10,1 ± 3,1	16,2 ± 3,6	19,4 ± 2,7	28,8 ± 2,0
Matière grasse - <i>Fat</i> 8,4	46,1 ± 1,9	46,2 ± 3,1	48,0 ± 2,8	48,2 ± 1,3
Variation de poids des animaux (g/jour) — <i>Weight gain variation (g/day)</i>	— 63	— 82	— 46	— 3

L'accroissement de digestibilité observé pour la cellulose brute et pour la matière grasse est modéré (respectivement 3 et 2 points). Par contre, la digestibilité des matières azotées totales augmente de 19 points (elle passe de 10 p. 100 à 29 p. 100) ($P < 0,01$). Cette forte amélioration explique en partie celle de la matière organique.

IV. Discussion

A. Action des tanins des marcs de raisin sur la digestibilité

La plupart des auteurs qui ont travaillé sur l'action des tanins en alimentation (revues de McLEOD, 1974 ; de SINGLETON & KRATZER, 1974 ; de MITJAVILLA, 1979) ont utilisé des tanins du commerce (acide tanique ; tanins du Quebracho ou tanins du raisin). Mais, à notre connaissance peu d'auteurs ont vérifié que les tanins natifs des aliments sont libérés dans le tube digestif lorsque ces aliments sont ingérés par l'animal.

Nos résultats montrent que les tanins condensés des marcs de raisin sont libérés en forte quantité dans le rumen du mouton qui les consomme. Isolés puis apportés *in vitro*, ils diminuent fortement à partir de la concentration de 4 p. 100 (0,4 mg par ml de milieu d'incubation) la digestibilité de la matière sèche du tourteau de soja.

Cette concentration est cependant en moyenne cinq fois plus faible que celle que nous avons dosée *in vivo* (2 mg/ml). A cette concentration, ces tanins doivent affecter non seulement la digestibilité propre des marcs mais également celle d'un éventuel complément.

Les mécanismes par lesquels les tanins interviennent pour diminuer la digestibilité des aliments ne sont pas totalement élucidés ; il est généralement admis que la propriété essentielle des tanins est de se combiner avec les protéines pour donner des complexes plus ou moins stables (METCHE, 1980). La réactivité des tanins serait maximum dans la plage de poids moléculaire comprise entre 500 et 3 000, intervalle auquel appartiennent les tanins du raisin puisque OH et HOFF (1979) situent leur poids moléculaire entre 1 000 et 3 000. Cependant, il est probable, compte tenu de la faible valeur de l'indice de polymérisation (0,4) des tanins des marcs de raisin libérés dans le rumen que leur poids moléculaire soit plus élevé, mais inférieur à 10 000, puisque au-delà de ce poids moléculaire, ils ne forment plus de complexes avec les protéines.

Ces complexes peuvent se former avec les protéines de l'aliment ou avec différentes enzymes digestives du tractus digestif. C'est ainsi que TAMIR & ALUMOT (1969) d'une part, et MILIC, STOJAVONIC & VUCUREVIC (1972) d'autre part notent l'inhibition de la trypsine, de l'amylase et de la lipase respectivement par les tanins de la caroube et ceux de la luzerne ; GRIFFITHS & JONES (1977) observent celle de la cellulase par les tanins de la féverole et SALAH (1983) celle de l'uréase par les tanins des marcs de raisin.

B. Effet inhibiteur du PEG 4 000 sur les tanins des marcs de raisin isolés dans le rumen

Le PEG 4 000 (Polyéthylène glycol 4 000) est un composé polymérisé à longue chaîne de formule générale : HO-CH₂ (CH-OCH₂)_n -CH₂-OH. Le PEG de poids moléculaire 4 000 est connu comme « marqueur » dans les études de transit digestif chez les animaux (revue de LAPLACE, 1972) ; il a été par ailleurs utilisé dans les

opérations d'extraction d'enzymes des plantes pour les protéger contre les précipitations par les tanins (JONES & HULME, 1961). En effet, les tanins condensés ont une affinité plus grande pour le PEG 4 000 que pour les protéines.

Dans nos essais où le rapport $\frac{\text{PEG}}{\text{tanins}}$ se situe entre 1/2 et 1/6 le PEG inhibe

totallement l'action dépressive des tanins puisque d'une part *in vitro* la digestibilité de la matière sèche du tourteau de soja est rétablie et d'autre part *in vivo*, des doses croissantes de PEG 4 000 dans la ration améliore parallèlement la digestibilité de la matière organique et particulièrement celle de l'azote.

Le PEG 4 000 a donc bien protégé les protéines libres du rumen, du chyme et du chyle (qu'elles soient de nature alimentaire ou enzymatique) contre les phénomènes de complexes par les tanins. FORD & HEWITT (1979) enregistrent les mêmes résultats chez le rat et le poulet qui étaient alimentés avec des variétés de sorgho riches en tanins condensés.

Selon JONES & MANGAN (1977), le PEG 4 000 peut, soit empêcher la formation des complexes tanins-protéines, soit s'échanger avec la protéine lorsque le complexe est déjà formé. Dans ces conditions, 95 p. 100 et 30 p. 100 des protéines sont libérées lorsque le pH se situe respectivement entre 1 et 3 et entre 8 et 8,5.

L'effet favorable du PEG 4 000 sur la digestibilité des marcs de raisin riches en tanins condensés laisse penser que d'autres polymères de poids moléculaire plus élevé (PEG 5 000 ou PEG 6 000) et le tween 80 ou encore le polyvinyl-pyrrolydone pourraient jouer le même rôle que le PEG 4 000. Néanmoins, le coût de l'opération est élevé puisqu'il se situe à 0,65 franc français par kg de matière sèche de marc de raisin ingéré.

Ces actions des tanins entraînent une augmentation de l'azote fécal des animaux qui consomment des aliments riches en tanins. Cet accroissement de l'azote fécal s'observe aussi bien chez le monogastrique (GLICK & JOSLYN, 1970) que chez le ruminant (MCLEOD, 1974).

Chez cette dernière espèce, SINGH & ARORA (1981) observent une diminution de 16 points de la digestibilité de l'azote lorsque la ration renferme 4 p. 100 de tanins de « Shorea Robusta ». TAGARI *et al.* (1965) notent en rumen artificiel une inhibition complète de la synthèse de protéines microbiennes en présence de tanins de caroube (2 mg par ml de milieu d'incubation) sans que la production d'ammoniac soit affectée. LARWENCE (1983) aboutit aux mêmes résultats, et observe par ailleurs que la production d'acides gras volatils n'est pas modifiée par des doses croissantes de tanins des marcs de raisin. Ces résultats pourraient signifier que les tanins agissent sur les mécanismes de transport de l'ammoniac dans les microorganismes ou bien directement sur leur morphologie puisque HENIS, TAGARI & VOLCANI (1964) montrent qu'en présence de tanins, les microorganismes grandissent en taille mais ne se multiplient pas. Néanmoins, toutes les espèces de microorganismes ne sont pas affectées de la même façon ; ainsi, ces mêmes auteurs observent que la respiration de « C. Fulvus » diminue de 30 p. 100 alors que celle de « E. Coli » n'est pas modifiée.

PERKINS (1963) suppose une adsorption des tanins à la surface des microorga-

nismes gênant les échanges cellulaires ou bien une pénétration des molécules de tanins à l'intérieur des cellules microbiennes et réaction avec leurs constituants.

Très récemment, BELIN (1982) observe effectivement au microscope électronique l'adsorption des tanins condensés du vin à la surface de cellules de champignons mais les échanges respiratoires n'étaient pas perturbés.

Toutes ces actions pourraient expliquer la diminution de digestibilité (notamment de l'azote) des aliments riches en tanins. Pour les marcs de raisin, les tanins interviennent également par insolubilisation des matières azotées du produit. En effet, leur solubilité dans une solution tampon ne dépasse pas 9 p. 100 (LARWENCE & YAHIAOUI, 1983), ce qui limite probablement la croissance bactérienne dans le rumen ; ceci explique qu'un apport de 12 g d'urée par kg de matière sèche de marc, améliore la digestibilité de la matière organique de 12 points (30 p. 100 à 42 p. 100) (LARWENCE & BERTHE, 1981).

V. Conclusion

Les tanins que renferment les marcs de raisin sont en partie libérés dans le rumen au cours du processus de dégradation de l'aliment dans cette poche. Cette libération est suffisamment importante (2 mg/ml de jus de rumen) pour affecter le métabolisme des microorganismes puisque *in vitro*, ces tanins apportés à la concentration de 0,4 mg/ml de milieu d'incubation diminue significativement la digestibilité du tourteau de soja.

L'accroissement de la digestibilité *in vivo* de 8 points et de 19 points, obtenu respectivement pour la matière organique et pour les matières azotées après addition de 20 g de PEG 4 000 à la ration confirme l'action dépressive des tanins sur l'utilisation digestive des marcs de raisin et de façon privilégiée sur celle des matières azotées.

Le PEG 4 000, grâce à sa grande affinité pour les tanins qu'il précipite, constitue après la soude un second procédé pour améliorer la digestibilité des marcs de raisin sans avoir recours à une complémentation azotée et énergétique. Mais compte tenu du coût élevé d'un kg de M.S. de marc ainsi complétement (0,65 franc français) ce procédé n'est pas recommandable d'un point de vue économique.

Summary

Feeding value of grape marc tannins.

III. - *Role of condensed tannins in the low feeding value of grape marc in sheep : effect of polyethylene glycol 4 000*

In order to determine whether grape marc tannins (5 p. 100 of the dry matter) are released in the rumen during digestion, we used sheep fitted with rumen fistulae and receiving grape marc *ad libitum*. The determination of tannins was made in 100 ml rumen fluid collected from these animals. It appeared that during the 24hr cycle the rumen mean

level of tannins ranged around 2 mg/ml (fig1, tabl. 1). Tannins added *in vitro* at a rate of 10, 20 and 30 mg, to soyabean meal highly reduced the digestibility of this diet after 8 or 24h of incubation (fig. 2).

Addition of polyethylene glycol 4 000 (PEG 4 000) according to a $\frac{\text{PEG 4 000}}{\text{tannins}}$ ratio of 1/2, 1/4 and 1/6, respectively to 10, 20 and 30 mg tannins, restored the digestibility of soyabean meal, but more markedly for 24 h of incubation (fig. 2).

This inhibitory action of PEG 4 000 on tannins was confirmed *in vivo* since grape marc diets (4 kg/day) supplemented with 5, 10 and 20 g PEG 4 000, increased the digestibility of the organic matter from 31-39 p. 100 and that of nitrogen from 10 to 29 p. 100.

The dose of 20 g PEG 4 000 allowed to maintain the weight of the animals, but on account of the high dry matter price (0.65 FF) of 1 kg grape marc supplemented in that way, this procedure is not advisable from an economic point of view.

Key words : grape marc, condensed tannins, digestibility, PEG 4 000, sheep.

Reçu en mai 1984.

Accepté en juillet 1984.

Références bibliographiques

- BELIN J.M., 1982. Biologie des levures liées à la vigne et au vin. *Thèse de Doctorat ès sciences naturelles*, 227 p. Université de Dijon.
- DUMONT R., TISSERAND J.L., 1978. Valeur alimentaire du marc de raisin déshydraté. *Ann. Zootech.*, **27**, 631-637.
- ECONOMIDES S., HADJIDEMETRIOU D., 1974. The nutritive value of some agricultural by products (communication personnelle).
- FABRE J., 1909. Sur la valeur alimentaire du marc de raisin. *Ann. de l'E.N.A. de Montpellier.*, Fasc. III, 219-228.
- FORD J.E., HEWITT D., 1979. Protein quality in cereals and pulses. 2. - Influence of polyethylene glycol. on the nutritional availability of methionine in sorghum (sorghum vulgare pers.), field beans (*Vicia faba* L) and barley. *Br. J. Nutr.*, **42**, 317-323.
- GLICK Z., JOSLYN A., 1970. Effect of tannic acid and related compounds on the absorption and utilization of protein in the Rat. *J. Nutr.*, **100**, 516-520.
- GLORIES Y., 1978. *Recherche sur les matières colorantes du vin*. Thèse de Doctorat es sciences naturelles, 195 p. Université de Bordeaux.
- GOLDSTEIN J.C., SWAIN T., 1963. Changes in tannins in ripening fruits. *Phytochemistry*, **2**, 371-383.
- GRIFFITHS D.W., JONES D.I.H., 1977. Cellulase inhibition by tannins in the testa of field beans (*Vicia faba*). *J. Sci. Fd Agric.*, **28**, 983-989.
- HADJIPANAYIOTOU M., LOUCA A., 1976. A note on the value of dried citrus pulp and grape marc as barley replacements in calf fattening diets. *Anim. Prod.*, **23**, 129-132.
- HENIS Y., TAGARI A., VOLCANI R. Effect of water extracts of carobs pods, tannic acid and their derivatives on the morphology and growth of microorganisms. *Appl. Microbiol.*, **12**, 204-209.
- HEWITT D., FORD J.E., 1982. Influence of tannins on the protein nutritional quality of food grains. *Proc. Nutr. Soc.*, **41**, 7-17.
- JONES J.D., HULME A.C., 1961. Cités par HEWITT et FORD, 1982. *In* : Influence of tannins on the protein nutritional quality of food grains. *Proc., Nutr. Soc.*, **41**, 7-17.
- JONES W.T., MANGAN J.L., 1977. Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis vicifolia scop.*) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *J. Sci. Fd. Agric.*, **28**, 126-136.

- LAPLACE J.P., 1972. Le transit digestif chez le monogastrique. I. - Les techniques d'étude. *Ann. Zootech.*, **21**, 83-105.
- LARWENCE A., 1983. *Recherches sur les facteurs limitants de la faible valeur nutritive des marcs de raisin pour le ruminant : procédés d'amélioration*. Thèse de Doctorat es sciences naturelles, 248 p. Université de Dijon.
- LARWENCE A., BERTHE J.L., 1981. Influence de deux sources de matières azotées (luzerne et urée) sur la digestibilité par des moutons de marc de raisin épuisé et ensilé (Etude du bilan azoté). *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord.*, **69**, 61-73.
- LARWENCE A., YAHIAOUI A., 1983. Valeur alimentaire des marcs de raisin. I. - Influence de 8 sources azotées de complémentation sur l'utilisation digestive par le mouton de marc de raisin épuisé et ensilé. *Ann. Zootech.*, **32**, 357-370.
- LARWENCE A., HAMMOUDA F., GAOUAS Y., 1983. Valeur alimentaire des marcs de raisin. II. - Effet d'un traitement à la soude sur la valeur alimentaire chez le mouton de marc de raisin épuisé à la vapeur et ensilé. *Ann. Zootech.*, **32**, 371-382.
- MAYMONE B., PETRUCCI E., 1945. Ricerche sulla composizione chimica sulla digestibilità e sull'energia metabolizzabile della vinaccia intira, della vinaccia diraspata e della vinaccia distillata. *Annali dell' Ist. Spe. Zoot. Roma.*, **8**, 161-204.
- MC LEOD M.N., 1974. Plant tannins. Their role in forage quality. *Nutr. Abstr. Rev.*, **44**, 803-815.
- MESSAOUDI L., 1982. Essai d'amélioration de la valeur alimentaire du marc de raisin ensilé. *Mémoire de fin d'études*, 82 p. E.N.S.S.A.A., Dijon.
- METCHE M., 1980. Tanins : nature et propriétés. *Compte rendu du groupe polyphénols*, p. 11-32. Neuchâtel, 17-19 septembre.
- MILIC B.L.J., STOJANOVIC S., VUCUREVIC N., 1972. Lucerne tannins. II. - Isolation of tannins from lucerne, their nature and influence on the digestive enzyme *in vitro*. *J. Sci. Fd. Agric.*, **23**, 1157-1162.
- MITJAVILLA S., 1979. Problèmes nutritionnels liés à la présence de tanins dans les aliments. *Compte rendu du groupe polyphénols*, p. 5-14. Logrono, Espagne, 2-4 mai.
- OH H.L., HOFF J.E., 1979. Fractionation of grape tannins by affinity chromatography and partial characterization of the fractions. *J. Food. Sci.*, **44**, 87-97.
- PERKINS D., 1963. Chemical structure and biosynthesis of bacterial cell walls. *Bacterial Rev.*, **27**, 18-55.
- REYNE Y., GARAMBOIS X., 1977. Valeur alimentaire chez le mouton de l'ensilage de marc de raisin épuisé. *Ann. Zootech.*, **26**, 471-479.
- RIBEREAU-GAYON P., 1966. Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure. *Chimie Anal.*, **48**, 188-196.
- SALAH A., 1983. *Etude chez le mouton adulte du rôle du comportement alimentaire et des tanins sur la digestibilité des marcs de raisin*. Thèse d'ingénieur, 123 p. I.N.A., El-Harrach, Algérie.
- SANCHEZ VIZCAINO E., SMILG N., 1971. Energy value of a grape by product for sheep. *Revista de nutricion animal.*, **9**, 153-166. In : *Nutr. Abstr. Rev.*, **42**, 1205.
- SARTI D.M., 1970. Ricerche sulla digestibilità, sul valore nutritive del marco di uva e sul valore biologica della sua sostanza proteica. *Estratto dagli della facolta di agraria dell universita di peruvia.*, vol. XXV, 65-90.
- SINGH K., ARORA S.P., 1981. Influence of feeding salseed meal on feed utilization and growth. *Indian. J. Dairy Sci.*, **33**, 526-529.
- SINGLETON V.L., KRATZER F.H., 1974. Plant phenolics. In : *Toxic constituents of animal foodstuffs*, 327-345. 2 Ed. Acad. Press. New York and London.
- SWAIN T., HILLIS W.E., 1959. The phenolic constituents of prunus doestica. I. - The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Fd. Agric.*, **10**, 63-68.
- TAGARI H., HENIS Y., TAMIR M., VOLCANI R., 1965. Effect of carob pod extract on cellulolysis, proteolysis, deamination, and protein biosynthesis in an artificial rumen. *Applied microbiol.*, **13**, 437-442.
- TAMIR M., ALUMOT E., 1969. Inhibition of digestive enzymes by condensed tannins from green and ribe carobs. *J. Sci. Fd. Agric.*, **20**, 200-209.
- TILLEY J.M.A., TERRY R.A., 1963. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Brit. Grassld. Soc.*, **18**, 104-111.