

## COMPARER L'EFFICACITE DE DIFFERENTS PIGMENTS ROUGES SUR LA PIGMENTATION DU JAUNE D'OEUF

**Aureli Raffaella<sup>1</sup>, Philipps Petra<sup>1</sup>, Fru Fidelis<sup>1</sup>, Schierle Joseph<sup>2</sup>, Gadiant Martin<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *DSM Nutritional Products France, Centre de Recherche en Nutrition Animale, BP 170,  
68305 Saint-Louis Cedex, France,*

<sup>2</sup> *DSM Nutritional Products Ltd, P.O. Box 3255, CH-4303 Kaiseraugst, Switzerland*

### RÉSUMÉ

L'addition de mêmes concentrations de caroténoïdes dans l'aliment permet d'obtenir des œufs de couleur ou d'intensité de couleur différentes. L'efficacité de pigmentation de trois produits de caroténoïdes rouges (deux produits de canthaxanthine C1, C2 et un produit de capsanthine/capsorubine C3) a été évaluée lors d'un essai de 21 jours sur poule pondeuse. Les poules ont été nourries avec un aliment dépourvu de pigment pendant les trois semaines précédant le début de l'essai, puis les trois produits ont été inclus à hauteur de 2, 4 et 8 mg.kg<sup>-1</sup> dans un aliment composé de blé, de riz et de tourteau de soja. Les performances de ponte et la consommation d'aliment ont été calculées et en fin d'expérience les trois derniers œufs de chaque poule ont été récoltés et regroupés par traitement. Des mesures de colorimétrie du jaune d'œuf ont été effectuées avec un colorimètre Lab Scan XE 16436. La pigmentation du jaune d'œuf a aussi été évaluée par une notation visuelle sur une échelle de 1 à 15 en utilisant l'éventail DSM de couleurs du jaune d'œuf. Pour l'ensemble des variables étudiées, et quelques soient les niveaux d'inclusion, les produits C1 et C2 montrent une pigmentation du jaune d'œuf significativement supérieure à celle obtenue avec C3. Néanmoins, C1 montre une pigmentation plus forte ( $p < 0,05$ ) du jaune d'œuf que le produit C2 à 4 mg par kg d'aliment. La coloration des jaunes entre les deux produits est comparable à 2 et 8 mg.kg<sup>-1</sup>. Aux mêmes niveaux d'inclusion de canthaxanthine, C1 pigmente au moins de la même manière que le produit C2. Mais C1 étant 15 % plus concentré en canthaxanthine que C2, 15 % en plus de produit C2 a dû être utilisé pour obtenir une pigmentation du jaune similaire.

### ABSTRACT

At similar concentrations, different carotenoids either pigments different colour hues or pigment same colour hues with different intensities. This trial was carried out to compare the egg yolk pigmentation of a three red carotenoids products C1, C2 (canthaxanthin product) and C3 (capsanthin/capsorubin product). Test diets contained either no pigments substance or one of the test substances at the following levels of inclusions 2, 4 or 8 mg.kg<sup>-1</sup>. Prior to the trial, hens were fed a pigment-free diet for 3 weeks and then the test diets were fed for 3 weeks. At the end of the test period the last three eggs per bird were collected. They were colourimetrically analysed using a Minolta Chromameter and by visual scores from 1 to 15 using the DSM-Yolk Colour Fan. Result from all variables studied, showed that C1 and C2 were significantly better in red pigmentation of egg yolk than the product C3. At 4 mg.kg<sup>-1</sup>, C1 was significantly better than C2, while at 2 and 8 mg.kg<sup>-1</sup> they were similar. All feed treatments containing the product C2 were overages by 15 % since product analyses proved that the product contained 15 % less canthaxanthin than C1. At least 15 % more of the C2 product was required to produce, at the most, similar results to C1.

## INTRODUCTION

La couleur des œufs est un critère de choix pour les consommateurs. Elle n'affecte pas la valeur nutritive de l'œuf et elle dépend principalement de la nourriture consommée par les poules. En effet, comme les poules ne sont pas capables de synthétiser des pigments, ceux-ci doivent être inclus en quantité adéquate dans les régimes alimentaires pour assurer l'uniformité de la couleur du jaune d'œuf (Blount et al., 2002). Ces substances, principalement des caroténoïdes, sont largement répandues dans la nature et ont été utilisées depuis des années pour la pigmentation des œufs (Hencken, 1992 ; Grashorn et Steinberg, 2002). Ces caroténoïdes, bien que présents dans l'aliment, ne sont pratiquement pas déposés dans le jaune d'œuf et n'ont donc pas d'efficacité pigmentante. Les principaux caroténoïdes possédant une valeur pigmentante en raison de leur caractéristiques de teinte et de dépôt dans le jaune sont l'apo-ester, la lutéine, la zéaxanthine, la canthaxanthine et la capsanthine/capsorubine (Blanch et Hernandez, 2000). L'addition de mêmes concentrations de différents caroténoïdes dans l'aliment, permet cependant d'obtenir des œufs de couleur ou d'intensité de couleur différentes. Cette étude propose d'évaluer l'efficacité de pigmentation de trois produits de caroténoïdes rouges.

## 1. MATERIELS ET METHODES

### 1.1. Animaux

L'essai expérimental a été réalisé au Centre de Recherche en Nutrition Animale (DSM Nutritional Products France) avec 270 poules pondeuses de lignée Isa Brown âgées de 46 semaines. Les poules ont été réparties en 90 groupes de 3 poules, chaque poule étant logée dans une cage individuelle. 9 groupes de trois poules ont été attribués à chaque régime alimentaire additionné des substances à tester. L'essai a duré trois semaines et s'est déroulé dans des conditions de température et d'humidité contrôlées. Les œufs ont été récoltés et pesés chaque semaine afin de calculer le pourcentage de ponte et le poids moyen des œufs. A la fin de l'essai, les trois derniers œufs de chaque poule ont été récoltés et regroupés par régimes alimentaires en vue des analyses de colorimétrie.

### 1.2. Aliment

Les animaux ont été nourris pendant les trois semaines précédant le début de l'essai avec un aliment de base sans pigment et composé de blé, de riz, d'avoine et de tourteau de soja. L'aliment a été formulé de manière à répondre aux besoins nutritionnels des poules pondeuses (Tableau 1). Les animaux avaient accès pendant toute la durée de l'essai expérimental à l'eau et à l'aliment sous forme de farine *ad libitum*. Pendant l'essai, les groupes

témoins ont été nourris avec l'aliment de base alors que les autres groupes ont été nourris avec l'aliment de base auquel les substances de pigmentation à évaluer ont été ajoutées. Les trois pigments rouges, C1 (CAROPHYLLE® Rouge 10 %) C2 (produit de canthaxanthine Chinois), et C3 (extrait de paprika) ont été inclus à 2, 4 et 8 mg de canthaxanthine par kg d'aliment. Afin d'obtenir une bonne couleur jaune de base, 3 mg d'apo-ester par kg d'aliment ont été rajoutés aux différents régimes alimentaires.

### 1.3. Analyses biochimiques

Des mesures de colorimétrie du jaune d'œuf ont été réalisées sur chaque œuf individuellement (soit 27 œufs par traitement), à l'aide d'un colorimètre Lab Scan XE 16436 (CIE-Lab system, Xenocolor Chromameter) pour déterminer, selon le système international de couleur, la clarté ( $L^*$ ), la couleur rouge ( $a^*$ ) et jaune ( $b^*$ ) du jaune d'œuf, et pour calculer dans l'espace colorimétrique CIE 1976  $L^*a^*b^*$ , la teinte ( $h^*ab$ ) et l'intensité lumineuse ( $C^*ab$ ) de la couleur du jaune de l'œuf. La pigmentation du jaune d'œuf a été aussi évaluée sur une échelle de 1 à 15 en utilisant l'éventail DSM de couleurs du jaune de l'œuf (Hernandez, 2005). La concentration en canthaxanthine dans l'aliment a été déterminée par chromatographie liquide haute performance en phase inverse selon une méthode décrite par Schierle *et al.*, 1995. Deux mesures par prise au minimum ont été réalisées.

### 1.3. Analyses statistiques

Une analyse de variance à un facteur (ANOVA 1) a été utilisée afin d'évaluer statistiquement les valeurs des mesures de colorimétrie du jaune d'œufs obtenues avec les trois produits testés, grâce au logiciel Stat box V.5 (Grimmersoft 1995). Les moyennes significativement différentes ( $p < 0,05$ ) ont été comparées grâce au test de Newman Keuls. Si la lettre attribuée aux deux moyennes de chaque paire est identique alors il n'y a pas de différence statistiquement significative. Inversement, si la lettre attribuée aux deux moyennes de chaque paire diffère, la différence est significative.

Une analyse de régression non linéaire a été réalisée en utilisant le programme Origin 7,0 (Originlab Corporation 2002). Un modèle exponentiel du type  $y = a + b(1 - \exp^{-kx})$  a été choisi car il s'appliquait le mieux aux données :

- a : réponse obtenue sans addition de caroténoïde
- b : réponse maximale à l'addition de caroténoïde
- k : paramètre décrivant la pente de la courbe
- x : addition théorique de caroténoïdes ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )
- y : réponse (échelle de couleur DSM)

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats des analyses de la concentration en caroténoïdes dans les produits testés et dans l'aliment sont présentés dans les Tableaux 2 et 3 respectivement. Le produit C1 a une concentration en canthaxanthine de 103 g par kg de produit, alors que le produit C2 a une concentration de 89,3 g par kg de produit. Le produit C1 utilisé dans cet essai expérimental était donc 15 % plus concentré en canthaxanthine que le produit C2. La concentration en canthaxanthine dans les différents régimes alimentaires a été généralement en accord avec les niveaux d'inclusion définis.

Dans cette étude, les paramètres de production n'ont pas été affectés par l'addition des caroténoïdes. Un taux de ponte moyen de 89 % a été relevé. Cette valeur est en accord avec la courbe de ponte des poules pondeuses Isa Brown âgées de 46 semaines. Le poids moyen de 62 g des œufs récoltés rentre dans la classe 55-65 g correspondant à la classe des œufs les plus recherchés pour la vente d'après la réglementation européenne (Sauveur, 2002).

Les valeurs de colorimétrie et les valeurs obtenues sur une échelle de 1 à 15 de l'éventail de couleur DSM sont présentées dans le Tableau 4 et représentées sur les Figures 1 et 2. Les trois produits C1, C2 et C3 ont été comparés statistiquement à chaque niveau d'inclusion de caroténoïdes rouges soit 2, 4 et 8 mg.kg<sup>-1</sup>. Pour l'ensemble des variables étudiées, et quelques soient les niveaux d'inclusion, les produits de canthaxanthine C1 et C2 ont montré une coloration du jaune d'œuf significativement plus forte que celle obtenue avec l'extrait de paprika (C3) dont les composants actifs sont la capsanthine et la capsorubine. En effet, l'efficacité de pigmentation relative du produit C3, confirmée par la valeur du paramètre  $a^*$ , est inférieure à celle des produits C1 et C2. D'autre part, plusieurs études dont celle menée par Steinberg *et al.* (2000) ont démontré un faible taux de déposition (9%) de la capsanthine et de la capsorubine dans le jaune d'œuf comparé à celui de la canthaxanthine (39%) (Hoppe et Krennrich, 1995), expliquant cette différence de coloration du jaune d'œuf entre les deux types de caroténoïdes rouges testés. Cette différence de pigmentation du jaune d'œuf entre les deux types de pigments est aussi confirmée par les valeurs obtenues sur l'échelle de couleur DSM. Les produits de canthaxanthine ont permis de faire varier la pigmentation du jaune de 12 à 15 sur l'échelle colorimétrique, et de 9 à 13 pour l'extrait de paprika.

A 2, 4 et 8 mg par kg d'aliment, les valeurs de tous les paramètres étudiés, ont été comparables entre les deux produits de canthaxanthine C1 et C2. L'inclusion de 4 mg par kg d'aliment du produit C1 a montré cependant, une coloration du jaune significativement plus forte que le produit C2, notamment pour les

paramètres de la couleur rouge ( $a^*$ ), de la teinte de la couleur ( $h^*ab$ ) et sur l'échelle de couleur DSM.

Bien que l'addition de dose croissante de caroténoïdes se traduise par une augmentation de la couleur du jaune sur l'échelle DSM, l'efficacité de pigmentation relative est toutefois différente. En effet, la réponse à l'addition de pigments rouges, sur les valeurs de notation de la couleur du jaune d'œuf, a pu être décrite par des courbes de régression non linéaire montrant clairement que la couleur jaune de l'œuf obtenue avec le produit C1 et C2 est plus forte que celle obtenue avec le produit C3 (Figure 2). En accord avec les courbes  $y = 1,6 + 13,1 (1 - e^{-0,77x})$ ,  $y = 1,6 + 12,9 (1 - e^{-0,71x})$  et  $y = 1,6 + 11,3 (1 - e^{-0,48x})$  respectivement pour C1, C2 et C3, il est nécessaire d'utiliser deux fois plus de produit C3 pour obtenir une pigmentation similaire à celle obtenue en utilisant soit le produit C1, soit le produit C2 (Tableau 5). Blanch et Hernandez (2000) ont montré qu'un produit de paprika contenant 70% de xanthophylle total devait être ajouté 3,6 fois plus qu'un produit de canthaxanthine pour obtenir une même couleur du jaune. Dans la même étude, ils ont montré que 11,6 mg.kg<sup>-1</sup> de capsanthine/capsorubine était nécessaire pour obtenir une note de 14 sur l'échelle colorimétrique de DSM alors qu'une quantité infinie de produit C3 a été déterminé dans la présente étude.

## CONCLUSION

Cette étude a permis de confirmer que les deux types de caroténoïdes testés possèdent une efficacité de pigmentation du jaune d'œuf différente. Les différents paramètres d'évaluation de la couleur, ont montré que les produits de canthaxanthine C1 et C2 permettent une pigmentation du jaune d'œuf significativement plus forte que l'extrait de paprika C3. La pigmentation du jaune d'œuf est aussi dépendante de la teneur en caroténoïdes rouges du produit de pigmentation utilisé, car à un même niveau d'inclusion de 4 mg.kg<sup>-1</sup> de canthaxanthine, C1 permet une pigmentation du jaune d'œuf significativement plus forte qu'avec C2. De plus, C1 étant plus concentré en canthaxanthine que C2 de 15 %, 15 % en plus de produit C2 a dû être utilisé pour obtenir une concentration en canthaxanthine similaire dans les différents régimes alimentaires et par conséquent une couleur de jaune identique. En conclusion, il est impératif de considérer à la fois l'efficacité des produits de pigmentation rouge ainsi que leur teneur en caroténoïdes avant de les inclure dans l'alimentation des animaux, afin d'obtenir la couleur du jaune désiré.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Blanch A. et Hernandez J-M., 2000. Int. Poult. Prod. 8, N°2,25-29  
 Blount J.D., 2002. Proceedings of the Royal Society of London B.269, 29-36  
 EEC, 1986, Journ. Off. Comm. Europ., L130, 53-54  
 Hencken H., 1992. Poult.Sci. 71:711-717  
 Hernandez J-M., 2005. Int. Poult. Prod. 13:3  
 Hoppe P.P. et Krennrich G.,1995.V. Symposium Vitamine und Zusatzstoffe,Jena/Thüringen,56-61  
 Klünter A.-M., 1998. Roche Res. Rep., B-169'117  
 Sauveur B., 1988. INRA édition 395 :411  
 Schierle J., 1995. Roche Publication, 50771, 1-5  
 Steinberg W.,2000.Porceedings Soc.Nutr.Physiol.,Göttingen

**Tableau 1:** Composition de l'aliment

Ingrédients (%)	
Blé	38,5
Riz	21,5
Avoine	5,5
Tourteau de soja	21,0
Reste*	13,5
Energie Métabolisable (MJ.kg <sup>-1</sup> )	12,1
Protéines brutes (%)	16,0

\*In%: 0,05DL-Met, 1,7 DCP, 7,9 CaCO<sub>3</sub>,  
 0,1 NaCl, 1,0 Premix, 2,75 huile de soja

<sup>1</sup>EM. calculé avec EC-equation ECC, 1986

**Tableau 2:** Teneur en caroténoïdes des produits testés

	Canthaxanthine (mg.kg <sup>-1</sup> )	Lutéine (mg.kg <sup>-1</sup> )	Zéaxanthine (mg.kg <sup>-1</sup> )	Capsanthine+ Capsorubine (mg.kg <sup>-1</sup> )
<b>C1</b>	103	-	-	-
<b>C2</b>	89,3	-	-	-
<b>C3</b>	-	939	743	3,05

**Tableau 3 :** Concentration (mg.kg<sup>-1</sup>) analysée en canthaxanthine et en apoester des aliments

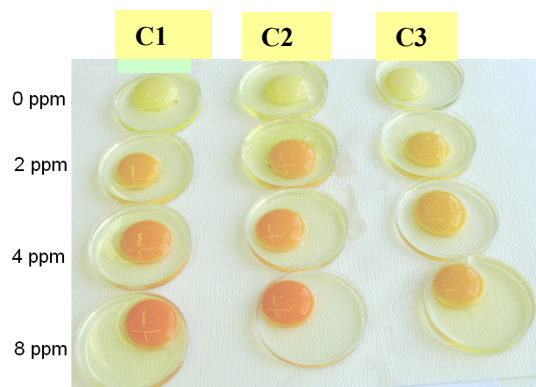
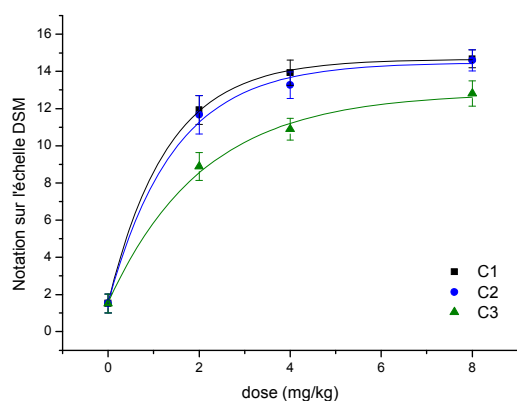
Produit	Canthaxanthine		Apoester	
	Dose	Valeurs analysées	Dose	Valeurs analysées
<b>Contrôle</b>	0	-	3	2,72
<b>C1</b>	2	2,17	3	2,23
<b>C1</b>	4	4,31	3	2,71
<b>C1</b>	8	7,49	3	2,98
<b>C2</b>	2	2,36	3	2,59
<b>C2</b>	4	4,13	3	2,87
<b>C2</b>	8	7,28	3	2,97
<b>C3</b>	2	3,45 <sup>1</sup>	3	3,29
<b>C3</b>	4	5,21 <sup>1</sup>	3	3,06
<b>C3</b>	8	8,18 <sup>1</sup>	3	2,82

<sup>1</sup> : concentration en Lutéine + Zéaxanthine + Capsanthine + Capsorubine

**Tableau 4** : Valeurs des mesures de colorimétrie pour le jaune d'œuf (moyenne  $\pm$  écartype)

Produit	Dose (mg.kg <sup>-1</sup> )	L*	a*	b*	h*ab	C*ab	Echelle DSM
Témoin	0	67,0 <sup>A</sup> $\pm$ 3,6	-6,5 <sup>C</sup> $\pm$ 0,3	20,9 <sup>B</sup> $\pm$ 2,6	107,4 <sup>A</sup> $\pm$ 1,5	21,9 <sup>B</sup> $\pm$ 2,6	1,5 <sup>C</sup> $\pm$ 0,5
C1	2	61,2 <sup>C</sup> $\pm$ 2,5	4,2 <sup>A</sup> $\pm$ 1,1	40,2 <sup>A</sup> $\pm$ 2,6	84,1 <sup>C</sup> $\pm$ 1,4	40,4 <sup>A</sup> $\pm$ 2,7	11,9 <sup>A</sup> $\pm$ 0,8
C2	2	62,3 <sup>C</sup> $\pm$ 2,4	4,0 <sup>A</sup> $\pm$ 1,1	40,9 <sup>A</sup> $\pm$ 2,6	84,5 <sup>C</sup> $\pm$ 1,3	41,1 <sup>A</sup> $\pm$ 2,7	11,7 <sup>A</sup> $\pm$ 1,0
C3	2	64,6 <sup>B</sup> $\pm$ 2,4	-1,4 <sup>B</sup> $\pm$ 0,7	41,0 <sup>A</sup> $\pm$ 3,3	92,1 <sup>B</sup> $\pm$ 1,1	41,1 <sup>A</sup> $\pm$ 3,2	8,9 <sup>B</sup> $\pm$ 0,8
Témoin	0	67,0 <sup>A</sup> $\pm$ 3,6	-6,5 <sup>D</sup> $\pm$ 0,3	20,9 <sup>B</sup> $\pm$ 2,6	107,4 <sup>A</sup> $\pm$ 1,5	21,9 <sup>B</sup> $\pm$ 2,6	1,5 <sup>D</sup> $\pm$ 0,5
C1	4	58,8 <sup>C</sup> $\pm$ 3,2	9,6 <sup>A</sup> $\pm$ 1,1	40,4 <sup>A</sup> $\pm$ 2,8	76,6 <sup>D</sup> $\pm$ 1,4	41,5 <sup>A</sup> $\pm$ 2,9	13,9 <sup>A</sup> $\pm$ 0,7
C2	4	59,9 <sup>C</sup> $\pm$ 2,9	8,8 <sup>B</sup> $\pm$ 1,0	40,1 <sup>A</sup> $\pm$ 2,8	77,6 <sup>C</sup> $\pm$ 1,1	41,1 <sup>A</sup> $\pm$ 2,8	13,3 <sup>B</sup> $\pm$ 0,7
C3	4	63,3 <sup>B</sup> $\pm$ 2,4	0,4 <sup>C</sup> $\pm$ 0,8	40,5 <sup>A</sup> $\pm$ 3,4	89,4 <sup>B</sup> $\pm$ 1,1	40,6 <sup>A</sup> $\pm$ 3,4	10,9 <sup>C</sup> $\pm$ 0,6
Témoin	0	67,0 <sup>A</sup> $\pm$ 3,6	-6,5 <sup>C</sup> $\pm$ 0,3	20,9 <sup>C</sup> $\pm$ 2,6	107,4 <sup>A</sup> $\pm$ 1,5	21,9 <sup>B</sup> $\pm$ 2,6	1,5 <sup>C</sup> $\pm$ 0,5
C1	8	57,8 <sup>C</sup> $\pm$ 2,8	14,1 <sup>A</sup> $\pm$ 1,0	39,7 <sup>AB</sup> $\pm$ 3,1	70,4 <sup>C</sup> $\pm$ 1,3	42,2 <sup>A</sup> $\pm$ 3,1	14,7 <sup>A</sup> $\pm$ 0,5
C2	8	57,4 <sup>C</sup> $\pm$ 2,3	14,2 <sup>A</sup> $\pm$ 1,3	39,1 <sup>B</sup> $\pm$ 3,2	70,0 <sup>C</sup> $\pm$ 0,9	41,6 <sup>A</sup> $\pm$ 3,4	14,6 <sup>A</sup> $\pm$ 0,6
C3	8	61,0 <sup>B</sup> $\pm$ 3,0	5,0 <sup>B</sup> $\pm$ 1,0	41,0 <sup>A</sup> $\pm$ 2,2	83,1 <sup>B</sup> $\pm$ 1,3	41,3 <sup>A</sup> $\pm$ 2,2	12,8 <sup>B</sup> $\pm$ 0,7

L\* = luminosité ; a\* = couleur rouge; b\* = couleur jaune; h\*ab = teinte; C\*ab = saturation

**Figure 1** : Photographie des œufs obtenus avec C1, C2 et C3**Figure 2** : Régression non linéaire de la notation visuelle de la couleur du jaune d'œuf**Tableau 5** : Correspondance entre l'Echelle DSM et la quantité de produit (mg.kg<sup>-1</sup>)

Echelle-DSM	Quantité de produit		
	C1	C2	C3
2	0	0	0,1
4	0,3	0,3	0,5
6	0,5	0,6	1
8	0,9	1,0	1,8
10	1,3	1,5	2,9
12	2,1	2,3	5,3
14	3,08	4,6	∞