

# Mise au point d'une méthode de détermination *in vitro* du taux de fermentation des fibres dans le gros intestin du porc

Christelle BOUDRY (1), André BULDGEN (1), Benoît ANCIAUX (1), Maria Alejandra RUIZ PENA (2) et Pascal LETERME (3)

(1) Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Unité de Zootechnie,  
2 Passage des Déportés, 5030 Gembloux (Belgique)

(2) Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Produccion animal,  
Cra 32 Chapinero, Palmira Valle (Colombie)

(3) Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Unité de Zootechnie, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy L'Etoile (France)

## Mise au point d'une méthode de détermination *in vitro* du taux de fermentation des fibres dans le gros intestin du porc

L'objectif des études synthétisées dans cette communication consiste à mettre au point une méthode *in vitro*, simple, fiable et respectueuse du bien-être animal, pour mesurer la fermentation des fibres dans le gros intestin du porc. Les travaux ont été réalisés en adaptant la méthode DE BOISEN et FERNANDEZ à la pepsine-pancréatine pour simuler la digestion des aliments dans la première partie du tube digestif. La méthode d'incubation en seringues de MENKE et STEINGASS a ensuite été utilisée pour quantifier la production de gaz des résidus de la prédigestion.

Les expériences, réalisées au moyen de porcs en croissance, ont porté sur la quantité et le mode de filtration des substrats prédigérés par la pepsine-pancréatine, l'identification d'un aliment de référence, la dilution des *inoculi* dans la solution tampon en seringues et la comparaison des fermentations, en utilisant comme *inoculi* des contenus d'intestin ou des matières fécales.

Les résultats montrent que la répétabilité de la digestion *in vitro* par la pepsine-pancréatine est satisfaisante et que les quantités d'aliment incubées peuvent être augmentées par rapport à la méthode de référence. La filtration des résidus peut être réalisée sur creusets filtrants ou sur toile Nylon. La pulpe de betterave constitue un aliment témoin idéal. Après 24 h d'incubation, la production de gaz obtenue à partir d'*inoculi* fécaux dilués 20 fois dans la solution tampon est identique à celle enregistrée à partir d'*inoculi* intestinaux dilués 10 fois dans le même tampon.

## Implementing an *in vitro* method to determine the rate of fibre fermentation in the pig's large intestine

The present work aimed to implement a simple and accurate *in vitro* method, also respectful of the animal welfare, to measure the rate of fibre fermentation in the pig's large intestine. The method of BOISEN and FERNANDEZ, based on pepsine-pancreatine incubation, was used to simulate the digestion in the first part of the digestive tract. The *in vitro* incubation in syringes of MENKE and STEINGASS was then used to quantify the gas production of the predigested residues.

The experiments, carried out using growing pigs, focused on the amount of matter needed for the feed predigestion by pepsine-pancreatine, the identification of a control feed, the dilution of *inoculi* in the buffer solution within the syringes and the comparison of gas production using the large intestine contents or the faeces as *inoculi*.

The results show that the repeatability of the *in vitro* digestion by the pepsine-pancreatine method is satisfactory and that the amount of incubated feeds may be higher than that of the reference method. The filtration of the residues can be done using glass filter crucible or Nylon cloth. Beet pulp is an ideal control feed. After 24 h of incubation, the gas production registered using faecal matter diluted 20 times in buffer solution was identical to that recorded with intestinal contents diluted 10 times in the same buffer.

## INTRODUCTION

En Europe, la production porcine est confrontée à des problèmes techniques, économiques et environnementaux, qui peuvent être partiellement résolus en incorporant de plus grandes quantités de fibres dans l'alimentation. Dans les pays en développement, les ressources alimentaires fibreuses telles que les graminées, les dicotylédones et certains sous-produits agro-industriels occupent souvent une place importante, en particulier dans l'alimentation des truies. A l'heure actuelle, on connaît peu de choses sur la fermentation des fibres dans le gros intestin du porc pour la majorité des aliments, mais leur intérêt est de plus en plus reconnu.

L'incorporation de fibres dans les rations pour porcs entraîne de plus faibles émissions d'ammoniac et d'odeurs. Elle diminue les pollutions azotées provenant des excréments urinaires (CANH et al, 1998 ; SUTTON et al, 1999), prévient les risques de diarrhées et influence la motilité et la circulation sanguine du côlon (BIRD et al, 2000). Enfin, les acides gras volatils produits dans le gros intestin peuvent représenter jusqu'à 30 % de l'énergie métabolisable de la ration (MCBURNEY et SAUER, 1993).

Chez le porc, plusieurs méthodes ont été développées pour prédire *in vitro* la digestibilité des aliments dans la partie antérieure du tube digestif (BOISEN et EGGUM, 1991 ; DUNG et UDÉN 2002), mais peu d'études ont été consacrées à la mise au point de techniques simples et fiables permettant de caractériser les apports énergétiques liés aux fermentations dans le gros intestin. L'objectif du travail présenté dans ce document consistait donc à adapter la méthode de fermentation en seringues, développée à Hohenheim (MENKE et al, 1979 ; MENKE et STEINGASS, 1988) et largement utilisée pour les ruminants, en soumettant préalablement les aliments à une digestion par la pepsine-pancréatine (BOISEN et FERNANDEZ, 1997).

## 1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Deux méthodes ont été mises au point : la méthode de prédigestion des aliments et celle de production de gaz à partir des résidus. La production de gaz a été étudiée au cours de 4 expériences successives visant à analyser l'effet de différents facteurs.

### 1.1. Prédigestion des aliments par la pepsine-pancréatine

La mise au point de cette première étape a été réalisée au moyen d'aliments contenant différentes proportions de fibres, à savoir : le pois, la pulpe de betterave déshydratée et le son de blé. Les aliments ont été moulus à 1 mm, puis incubés *in vitro* en suivant les deux premières étapes du protocole décrit par BOISEN et FERNANDEZ (1997). Dans cette méthode, 0,5 g d'aliment est incubé successivement en présence de pepsine (2 h à pH 2 et à 39 °C, pepsine porcine : 2000 FIP-U/g, Merck n° 7190) et de pancréatine (4 h à pH 6,8 et à 39 °C, pancréatine porcine : grade IV, Sigma n° P-1750). A l'issue de la digestion, les résidus sont recueillis en creusets filtrants (P2), rincés à l'éthanol (2 x 10 ml d'éthanol à 96 %) et à l'acétone (2 x 10 ml d'acétone 99,5 %), puis séchés à l'étuve

(60 °C) et pesés, en vue de contrôler le bon déroulement de la digestion et de récupérer les digesta.

Pour pallier aux faibles quantités résiduelles d'aliment obtenues après digestion et à la lenteur des filtrations, des essais ont été menés pour étudier la possibilité d'augmenter les quantités incubées et de réaliser la filtration sur toile Nylon. Pour les 3 aliments, 2 facteurs ont donc été étudiés au cours de mesures successives : la prise d'essai (0,5 g, 1 g et 2 g) en ajustant les quantités d'enzymes et le temps d'incubation de manière proportionnelle ; et la filtration sur creusets filtrants (P2) ou sur toile Nylon de 42 microns au moyen d'entonnoirs en porcelaine. Chaque modalité opératoire a été appliquée sur les 3 échantillons d'aliments au moyen de 6 répétitions. Les résultats ont été soumis à une analyse de la variance à 3 critères de classification comprenant comme facteurs l'aliment (n = 3) et la prise d'essai (n = 3) ou l'aliment (n = 3) et le mode de filtration (n = 2). Les moyennes ont été stratifiées au moyen de tests de Newman et Keuls.

## 1.2. Fermentations en seringues

### 1.2.1. Animaux et inoculi

Les expériences ont été réalisées au moyen de 3 porcs de race Landrace belge, pesant 35 à 60 kg. Ces animaux étaient munis d'une canule en T placée à 20 cm environ après la fin du caecum au niveau du colon, après avis favorable d'un Comité d'éthique (FUSAGx02/02, valable du 12/09/02 au 11/09/04). Ils recevaient journalièrement un aliment standard pour porc en croissance (Brichart 240, Sombreffe, Belgique).

Afin d'éviter les variations inter-animales lors de chaque incubation, les *inoculi* ont été préparés à partir de matières fécales ou de contenus intestinaux des 3 animaux, à parts égales. Lors des prélèvements successifs, les *inoculi* ont été recueillis en sachets de matière plastique saturés en CO<sub>2</sub> et placés au bain-marie à 39 °C. Afin de faciliter la mise en solution des bactéries, les prélèvements intestinaux et fécaux ont été systématiquement conditionnés en sachets, additionnés de 250 ml de la solution tampon de MENKE et STEINGASS (1988) et homogénéisés à l'aide d'un appareil de type Stomacher (Lab-blender Modèle 400) durant 60 secondes pour les *inoculi* réalisés à partir de matières fécales et 30 secondes pour ceux prélevés par la canule. Les *inoculi* finaux ont ensuite été constitués par filtration de la solution sur tamis métalliques (250 microns) et addition du reste de la solution tampon en vue d'obtenir la dilution souhaitée.

### 1.2.2. Incubations en seringues

Les incubations ont été réalisées dans des seringues en verre de 100 ml placées à l'étuve à 39 °C, en suivant exactement la procédure décrite par MENKE et STEINGASS (1988). Lors de chaque incubation, 3 seringues contenant uniquement l'*inoculum* (blanco) ont permis de déterminer le taux net de production de gaz des différents échantillons d'aliments. Pour chaque aliment entrant dans les expériences, 3 échantillons (prise d'essai de 200 mg d'échantillon moulu à 1 mm) ont été systématiquement incubés simultanément en

seringues et ces incubations ont été répétées à 3 reprises (périodes). Les lectures de production de gaz ont été systématiquement réalisées pour tous les échantillons 2, 5, 8, 12, 16, 20, 24, 48 et 72 h après le début de l'incubation.

### 1.2.3. Déroulement des différentes expériences

#### Choix de l'aliment de référence (Expérience 1)

La première expérience visait à identifier un aliment de référence destiné à contrôler le bon déroulement des fermentations lors de chaque incubation. Idéalement, cet aliment doit présenter des taux de fermentation réguliers et une production maximale de gaz après une période d'incubation relativement courte, sans devoir être préalablement digéré par la pepsine-pancréatine. Les aliments choisis dans cette perspective sont le riz blanc, le grain de maïs, le pois, le lupin jaune, les tourteaux de soja et de lin, la pulpe de betterave déshydratée, le son de blé et la paille de blé. Les *inoculi* utilisés dans cette expérience ont été réalisés à partir de matières fécales diluées 20 fois dans le tampon de MENKE (1988).

#### Taux de dilution de l'inoculum dans la solution tampon (Expérience 2)

Cette expérience, réalisée à partir d'échantillons non pré-digérés de pulpe de betterave déshydratée, visait à identifier le taux de dilution optimum des *inoculi* fécaux et intestinaux dans la solution tampon (1:5, 1:10, 1:20 et 1:40).

#### Choix de l'inoculum (Expérience 3)

La troisième expérience a consisté à comparer les taux de fermentations de la pulpe de betterave au moyen des deux

*inoculi* (contenu de côlon ou matières fécales), sur la base des productions maximales de gaz enregistrées lors des deux expériences précédentes.

#### Fermentation des aliments soumis à une prédigestion (Expérience 4)

La quatrième expérience a été réalisée au moyen des aliments utilisés dans la première expérience (à l'exception du tourteau de lin), mais soumis à une prédigestion par la pepsine-pancréatine.

Lors des deux dernières expériences, le contenu de chaque seringue a fait l'objet d'une mesure de pH en fin d'incubation, de manière à s'assurer que les fermentations s'étaient déroulées dans de bonnes conditions (pH supérieur à la valeur de 6,2).

### 1.2.4. Analyses statistiques

Les productions de gaz enregistrées à 24, 48 et 72 h ont été soumises pour les 4 expériences à des analyses de la variance à 2 critères de classification (aliment et période pour les expériences 1 et 4, dilution ou *inoculum* pour les expériences 2 et 3). L'analyse a été complétée, le cas échéant, par un test de Newman et Keuls.

## 2. RÉSULTATS

### 2.1. Prédigestion des aliments par la pepsine-pancréatine

Les digestibilités *in vitro* de la pulpe de betterave, du son de blé et du pois sont en moyenne, respectivement, de 35, 54 et

**Tableau 1** - Influence du mode de filtration (creusets P2 ou toile Nylon) et de la prise d'essai (0,5, 1 et 2 g) sur la digestibilité *in vitro* de la MS par la pepsine-pancréatine du pois, de la pulpe de betterave et du son de blé (moyennes  $\pm$  écarts-types, n = 6).

| Aliments           | Filtrations | Prises d'essai (g) | Digestibilités (%) |
|--------------------|-------------|--------------------|--------------------|
| POIS               | Creuset     | 0,5                | 66,6 $\pm$ 2,4 d * |
|                    |             | 1                  | 68,7 $\pm$ 2,7 c   |
|                    |             | 2                  | 63,9 $\pm$ 1,7 e   |
|                    | Nylon       | 0,5                | 78,7 $\pm$ 1,5 a   |
|                    |             | 1                  | 74,2 $\pm$ 1,8 b   |
|                    |             | 2                  | 68,7 $\pm$ 4,5 c   |
| PULPE DE BETTERAVE | Creuset     | 0,5                | 34,2 $\pm$ 1,4 b   |
|                    |             | 1                  | 36,0 $\pm$ 2,0 b   |
|                    |             | 2                  | 32,9 $\pm$ 1,3 c   |
|                    | Nylon       | 0,5                | 37,4 $\pm$ 2,1 a   |
|                    |             | 1                  | 34,4 $\pm$ 0,7 b   |
|                    |             | 2                  | 33,0 $\pm$ 1,5 c   |
| SON DE BLE         | Creuset     | 0,5                | 53,5 $\pm$ 0,5 b   |
|                    |             | 1                  | 54,0 $\pm$ 0,5 b   |
|                    |             | 2                  | 54,3 $\pm$ 0,4 b   |
|                    | Nylon       | 0,5                | 55,0 $\pm$ 0,7 a   |
|                    |             | 1                  | 54,4 $\pm$ 1,1 b   |
|                    |             | 2                  | 53,9 $\pm$ 0,9 b   |

\* : pour le même aliment, les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement différentes ( $P < 0,05$ )

70 %. Des différences très hautement significatives ( $P < 0,0001$ ) ont été mises en évidence pour les aliments, le mode de filtration et la prise d'essai, avec des interactions très hautement significatives entre ces 3 facteurs ( $P < 0,0001$ ). Des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre modes opératoires ont aussi été mises en évidence chez le pois (tableau 1).

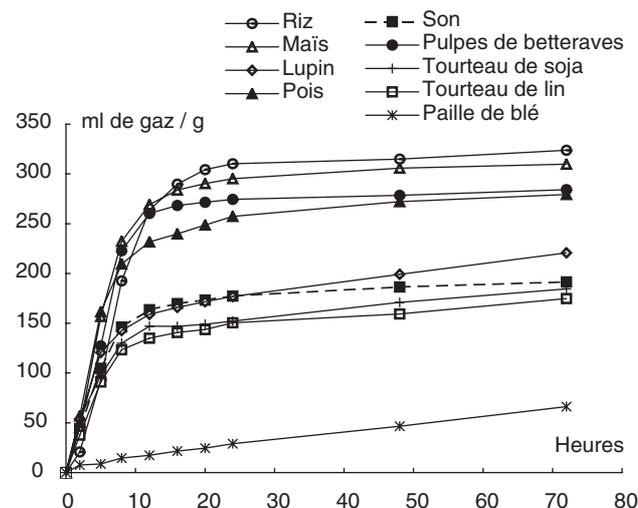
Pour la pulpe de betterave, les résultats obtenus avec une prise d'essai de 1 g et une filtration sur toile Nylon ou en creusets filtrants ne diffèrent pas significativement ( $P > 0,05$ ) de ceux obtenus au moyen de la méthode de référence (prise d'essai de 0,5 g et filtration en creusets filtrants). La digestibilité des pulpes est significativement ( $P < 0,05$ ) inférieure lorsque la prise d'essai est portée à 2 g, quel que soit le mode de filtration. Par contre, on obtient une digestibilité significativement ( $P < 0,05$ ) supérieure lorsque la prise d'essai est de 0,5 g, quand les résidus de la digestion sont récupérés par filtration sur la toile Nylon.

Les résultats obtenus pour le son de blé ne diffèrent pas significativement ( $P > 0,05$ ) en fonction du mode opératoire, excepté ( $P < 0,05$ ) lorsque la filtration est réalisée au moyen de toile Nylon, avec une prise d'essai de 0,5 g.

## 2.2. Fermentations en seringues

### 2.2.1. Choix de l'aliment témoin (Expérience 1)

La figure 1 fournit les cinétiques de production de gaz enregistrées pour les différents aliments (non soumis à une prédigestion) pouvant éventuellement servir de témoin lors d'incubations successives. Le riz et le maïs donnent lieu à une importante production de gaz provenant sans doute en grande partie de fermentations amylolytiques. Pour le pois, la production de gaz est irrégulière entre 16 et 24 h (non visible sur le graphique), tandis que la fermentation de la



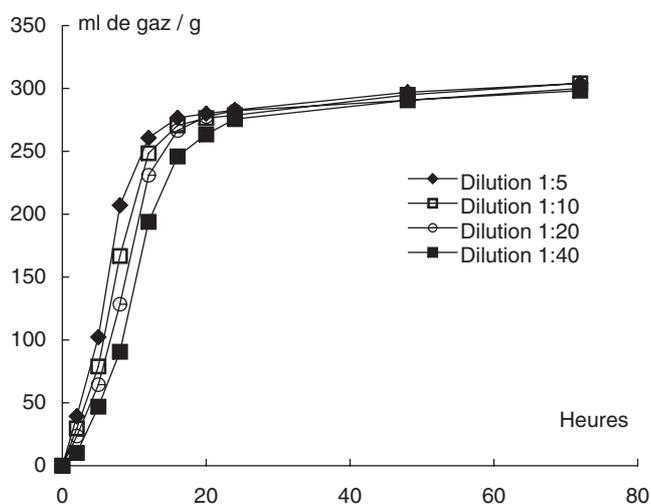
**Figure 1** - Productions de gaz obtenues au cours du temps pour différents aliments non soumis à une digestion enzymatique.

paille de blé est très faible et très lente. Pour les tourteaux de soja et de lin ou les graines de lupin, et dans une moindre

mesure pour le riz, le maïs et le pois, les productions de gaz se poursuivent très tardivement. Or, en vue de ne pas prolonger les incubations au-delà d'un certain temps, il est important d'atteindre une production quasi maximale de gaz peu après 24 h d'incubation. Seuls la pulpe de betterave et le son de blé remplissent cette condition et présentent des courbes parallèles. Eu égard à la production de gaz supérieure obtenue au moyen des pulpes de betteraves, celles-ci ont donc été retenues comme aliment témoin pour les expériences suivantes.

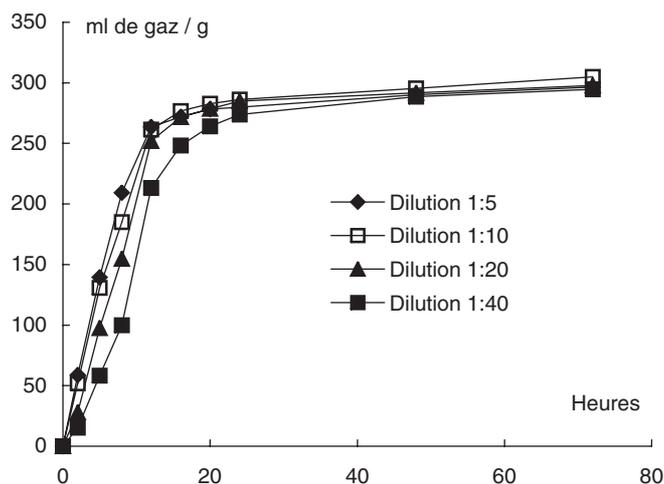
### 2.2.2. Dilution des inoculi fécaux et intestinaux dans la solution tampon (Expérience 2)

La figure 2 présente les productions de gaz de la pulpe de betterave pour les différents taux de dilution expérimentés au moyen d'inoculi fécaux. L'analyse de la variance a révélé des différences hautement significatives ( $P < 0,01$ ) entre périodes d'incubation et taux de dilution des inoculi pour les productions de gaz enregistrées jusqu'à 24 h d'incubation. Des interactions significatives ( $P < 0,05$ ) ont également été mises en évidence entre taux de dilution et périodes. Une analyse statistique plus détaillée, effectuée pour chaque période d'incubation et pour chaque taux de dilution (résultats non présentés ici), a également montré une plus grande régularité des résultats à partir de 24 h d'incubation pour le taux de dilution 1:20.



**Figure 2** - Productions de gaz obtenues au cours du temps pour la pulpe de betterave incubée en présence d'inoculum fécal et différents taux de dilution de celui-ci dans la solution tampon.

Les courbes moyennes de production de gaz enregistrées pour différentes dilutions de l'inoculum intestinal dans le tampon de Menke sont présentées à la figure 3. Pour cet inoculum, les résultats de l'analyse de la variance ont été identiques à ceux obtenus au moyen des matières fécales (effet significatif des taux de dilution et des périodes d'incubation,  $P < 0,01$ ). Les résultats des analyses statistiques réalisées par période (non présentés) ont également révélé une plus grande régularité des valeurs obtenues pour les taux de dilution 1:10 et 1:20. Etant donné que le taux de dilution 1:10 a



**Figure 3** - Productions de gaz obtenues au cours du temps pour la pulpe de betterave incubée en présence d'*inoculum* intestinal et différents taux de dilution de celui-ci dans la solution tampon.

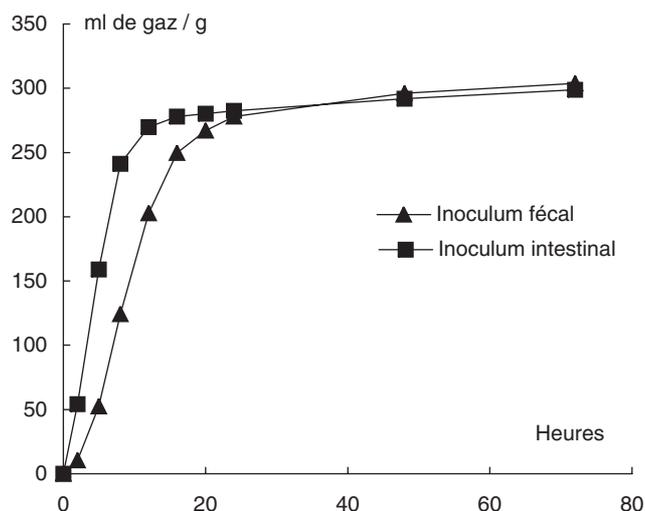
permis de produire un volume supérieur de gaz (voir figure 3), celui-ci a été retenu pour l'expérience suivante.

#### 2.2.3. Productions de gaz à partir d'*inoculi* fécaux et intestinaux (Expérience 3)

La figure 4 présente les productions moyennes de gaz enregistrées en incubant la pulpe de betterave (non prédigérée) en présence d'*inoculum* fécal (dilution 1:20) ou intestinal (dilution 1:10). Les fermentations démarrent nettement plus vite avec l'*inoculum* intestinal, mais les courbes finissent par se rejoindre. Les différences entre périodes et entre *inoculi* ont été significatives ( $P < 0,05$ ) jusqu'à 20 h d'incubation. A partir de 24 h d'incubation, aucune différence significative n'a été mise en évidence.

#### 2.2.4. Productions de gaz des aliments prédigérés (Expérience 4)

Le tableau 2 présente les digestibilités *in vitro* et les productions de gaz des résidus obtenus pour les différents aliments



**Figure 4** - Productions de gaz obtenues au cours du temps pour les pulpes de betteraves incubées en présence d'*inoculi* fécaux (dilution 1:20) ou intestinaux (dilution 1:10)

après 72 h d'incubation en seringues. Eu égard aux très faibles quantités de résidus obtenus pour le riz (digestibilité très élevée), ceux-ci n'ont pas été incubés en seringues.

Les légumineuses (lupin, pois, tourteau de soja) présentent des digestibilités intermédiaires, mais leurs fibres assurent les plus hautes productions de gaz après 72 h d'incubation. Les fibres de maïs et de pulpes de betteraves présentent des productions de gaz similaires, tandis que celles de la paille fermentent très peu.

La comparaison des résultats de la figure 1 et du tableau 2 montre que la prédigestion des légumineuses ou du tourteau de soja assure des taux de fermentation nettement plus élevés après 72 h d'incubation ; ce qui n'est pas le cas des autres aliments.

#### 2.2.5. Mesures du pH en fin d'incubation

Au cours des différentes incubations relatives aux deux dernières expériences, les valeurs de pH enregistrées après 72 h d'incubation ont varié entre 6,91 - 7,12 pour les blancs et 6,70 - 6,94 pour les différents échantillons.

**Tableau 2** - Digestibilité *in vitro* par la pepsine-pancréatine (n = 7) et production de gaz (n = 9) des résidus en seringues après 72 h d'incubation (moyennes  $\pm$  écarts-types).

| Aliments             | Digestibilité <i>in vitro</i> (%) | Production de gaz (ml/g) |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| Riz                  | 96,1 $\pm$ 1,9 a *                | -                        |
| Maïs                 | 86,4 $\pm$ 3,1 b                  | 279 $\pm$ 13 b           |
| Lupin                | 64,9 $\pm$ 1,4 e                  | 321 $\pm$ 19 a           |
| Pois                 | 71,1 $\pm$ 1,7 d                  | 337 $\pm$ 16 a           |
| Son de blé           | 55,6 $\pm$ 0,3 f                  | 146 $\pm$ 14 c           |
| Pulpes de betteraves | 32,8 $\pm$ 2,0 g                  | 272 $\pm$ 9 b            |
| Tourteau de soja     | 78,9 $\pm$ 0,9 c                  | 307 $\pm$ 9 a            |
| Paille de blé        | 18,2 $\pm$ 0,2 h                  | 49 $\pm$ 6 d             |

\* : dans la colonne, les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement différentes ( $P < 0,05$ )

### 3. DISCUSSION

#### 3.1. Prédigestion par la pepsine-pancréatine

Les digestibilités significativement différentes enregistrées au moyen du pois sont davantage liées à l'aliment qu'aux différents modes opératoires. En effet après mouture, une partie des granules d'amidon du pois peut rester emprisonnée dans des cellules internes du grain (LETERME et al, 1998). Dans notre protocole, les matières premières ont été moulues à 1 mm et les résultats très variables enregistrés pour le pois ont permis de suspecter une digestion partielle et aléatoire de l'amidon pour cet aliment. L'examen des résidus de digestion au microscope a confirmé cette hypothèse, de même que des analyses d'amidon sur les mêmes échantillons. Dans le cas des plus faibles digestibilités, nous avons en effet trouvé des teneurs dépassant 40 % en amidon dans les digesta (résultats non présentés).

Les différences significatives enregistrées pour la pulpe de betterave et le son de blé, lorsque la filtration était réalisée sur toile Nylon et avec une prise d'essai de 0,5 g, peuvent être attribuées à l'hygroscopicité élevée de la toile Nylon. Celle-ci entraîne des sources d'erreurs lors des pesées, qui sont importantes lorsque la prise d'essai est faible.

Enfin pour la pulpe de betterave, les prises d'essai de 2 g ont également conduit à des résultats significativement différents quel que soit le mode de filtration ; ce qui n'a pas été le cas pour le son. La moyenne est cependant très proche de celle enregistrée pour le mode opératoire de référence (0,5 g de prise d'essai et filtration sur creuset).

Abstraction faite des résultats obtenus au moyen d'une prise d'essai de 0,5 g filtré sur toile Nylon et des valeurs enregistrées pour le pois, les résultats indiquent une excellente reproductibilité de la méthode. Dans ces conditions, les différences entre modes opératoires sont très faibles, compte tenu du fait qu'il s'agit d'une méthode *in vitro*.

#### 3.2. Production de gaz en seringues

Les productions de gaz obtenues au cours des différentes expériences sont proches de celles enregistrées avec du liquide ruminal (MENKE et STEINGASS, 1988). Les pH mesurés indiquent d'ailleurs que les fermentations se sont bien déroulées dans des conditions optimales pour la flore cellulolytique (JOUANY et al, 1995). Ces valeurs correspondent aux pH de 6 à 7,2 rencontrés dans le gros intestin du porc (BACH KNUDSEN et al, 1991).

La comparaison *inoculi* fécaux et intestinaux a montré que le retard des fermentations avec l'*inoculum* fécal est comblé dans les 24 h. Les matières fécales peuvent donc être utilisées pour réaliser des études de fermentation *in vitro* chez le porc (WILLIAMS et al, 2000). Cette possibilité présente évidemment des avantages éthiques, techniques et économiques indéniables (pose et coût des canules ou sacrifice des animaux pour la collecte de contenu intestinal). En outre, le temps nécessaire pour récolter les *inoculi* est nettement plus court lorsqu'on utilise des matières fécales. Dans

ces conditions, la variabilité lors du démarrage des fermentations est nettement diminuée.

Dans toutes nos expériences, les coefficients de variation des productions moyennes de gaz ont été relativement élevés en début de fermentation (5 à 10 %) et ont fluctué en fonction de l'*inoculum* et du taux de dilution. Ils se sont ensuite stabilisés après 24 h à des valeurs de l'ordre de 2 à 3 %. Une comparaison des fermentations obtenues au moyen de différents échantillons peut donc être déjà réalisée à l'issue d'une journée complète d'incubation ; ce qui correspond aux temps de transit (24 à 49 h) observés dans le gros intestin du porc au moyen de régimes comportant différentes proportions de fibres (FREIRE et al, 2000 ; DUNG et al, 2002). Cependant pour plusieurs aliments et digesta, même si elles étaient très faibles, les fermentations n'étaient pas totalement terminées après 72 h d'incubation. Pour comparer les fermentations potentielles de divers échantillons, il conviendrait donc de poursuivre les incubations jusqu'à 96, voire 120 h. Par ailleurs, les différences significatives observées quasi systématiquement pour un même substrat lors de différentes séries d'incubations démontrent la nécessité de répéter les mesures au cours de 3 périodes.

Dans des conditions de fermentation suffisamment prolongée, la dernière expérience montre qu'il est possible de classer le devenir des fibres au niveau du gros intestin, à condition de soumettre les aliments à une prédigestion enzymatique. En effet, dans le cas des légumineuses et du tourteau de soja, les plus faibles taux de fermentation enregistrés au moyen des aliments non prédigérés sont probablement liés à la présence de facteurs antinutritionnels ou de matières grasses dans le cas du tourteau de soja. Il convient également de souligner que suite à une prédigestion et en présence de la même quantité de substrat incubé, les bactéries cellulolytiques ont également davantage de fibres fermentescibles à leur disposition.

### CONCLUSION

La méthode de fermentation des aliments en seringue (MENKE et STEINGASS, 1988) peut être utilisée pour étudier le taux de fermentation des digesta dans le gros intestin du porc. La prédigestion des aliments, selon les 2 premières étapes de la méthode de BOISEN et FERNANDEZ (1997) est nécessaire. Cette méthode peut être toutefois adaptée en utilisant une prise d'essai de 1 à 2 g. Dans le cas des légumineuses, et du pois en particulier, on veillera à mouler les échantillons à 0,5 mm pour que tout l'amidon soit digéré. Dans tous les cas, la détermination de la digestibilité *in vitro* est souhaitable en vue de s'assurer du bon déroulement de cette première étape.

Les taux de fermentation des digesta peuvent être déterminés en utilisant des matières fécales de porc comme *inoculum*, avec un taux de dilution de 1:20 dans la solution tampon. Compte tenu des variabilités observées, la mise en œuvre de 3 répétitions au cours de 3 périodes successives est souhaitable.

La mise au point de cette méthode ouvre des perspectives intéressantes pour les études relatives à la production d'acides gras volatils en fonction des aliments et de la

dégradabilité de ces derniers dans le gros intestin du porc, à la contribution des fibres à la digestibilité et dans la fourniture d'énergie à ces animaux et à leur influence sur le bien-être animal. Toutefois, la standardisation complète de cette technique nécessite des études complémentaires consacrées

à l'influence du régime et de l'âge des animaux sur les fermentations, ainsi qu'à l'identification d'un modèle mathématique permettant de comparer les paramètres obtenus pour différents aliments (vitesses de fermentation, productions potentielles de gaz).

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BACH KNUDSEN K.E., JORGENSEN B., ANDERSEN J.O., HANSEN I., 1991. *Br. J. Nutr.*, 65, 233-248.
- BIRD A.R., HAYAKAWA T., MARSONO Y., GOODEN J.M., RECORD I.R., CORRELL R.L., TOPPING D.L., 2000. *J. Nutr.*, 130, 1780-1787.
- BOISEN S., EGGUM E., 1991. *Nutr. Feed Rev.*, 4, 141-162.
- BOISEN S., FERNANDEZ J.A., 1997. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 68, 277-286.
- CANH T.T., SUTTON A.L., AARNINK A.J.A., VERSTEGEN M.W.A., SCHRAMA J.W., BAKKER G.C.M., 1998. *J. Anim. Sci.*, 76, 1887-1895.
- DUNG N.N.X., UDÈN P., 2002. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 95, 205-214.
- DUNG N.N.X., MANH L.H., UDÈN P., 2002. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 102, 109-124.
- FREIRE J.P.B., GUERREIRO A.J.G., CUNHA L.F., AUMAITRE A., 2000. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 87, 71-83.
- JOUANY J.P., BROUDISCOU L., PRINS R.A., KOMISARCZUK-BONY S., 1995. In « Nutrition des ruminants domestiques, ingestion et digestion ». 349-381. Ed. INRA, Paris, 921 p.
- LETERME P., FROIDMONT E., ROSSI F., THEWIS A., 1998. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 1927-1934.
- MCBURNEY M.I., SAUER W.C., 1993. *J. Nutr.*, 123, 721-727.
- MENKE K.H., RAAB L., SALEWSKI A., STEINGASS H., FRITZ D., SCHNEIDER W., 1979. *J. Agric. Sci. Cambridge*, 93, 217-222.
- MENKE K.H., STEINGASS H., 1988. *Anim. Res. Dev.*, 28, 7-55.
- SUTTON A.L., KEPHART K.B., VERSTEGEN M.W.A., CANH T.T., HOBBS P.J., 1999. *J. Anim. Sci.*, 77, 430-439.
- WILLIAMS B.A., TAMMINGA S., VERSTEGEN M.W.A., 2000. In : Symposium on Gas Production : fermentation kinetics for feed evaluation and to assess microbial activity. Wageningen, Netherlands, 97-100.

