

## Nutritional characterization and in vitro fermentation parameters of some local protein resources

### Caractérisation nutritionnelle et paramètres de fermentation in vitro de quelques ressources protéiques locales

A. ROUISSI<sup>1</sup>, H. SELMI<sup>2</sup>, A. BAHRI<sup>1</sup>, G. TIBAOUI<sup>1</sup>, H. ROUISSI

<sup>1</sup> Higher Institute of Agriculture of Mateur, University of Carthage

<sup>2</sup> The Sylvo-Pastoral Institute of Tabarka, University of Jandouba

\*Corresponding author: [houcine\\_selmi@live.fr](mailto:houcine_selmi@live.fr)

**Abstract** - The evaluation of the chemical composition, nutritional value and fermentation parameters in the rumen of local protein food resources sheep was studied in five indigenous forage species (lupine, field pea, sunflower, flax and beans). The chemical composition of these protein resources showed differences between species. The total nitrogen content (CP) was significantly higher ( $p < 0.05$ ) for lupine has a value of 38.6% DM, while other resources statically displayed comparable levels of about 24.5; 20.4; 20.7 and 21.1% DM respectively, for faba bean, flax, pea and sunflower. Oilseeds (sunflower and linseed) have the highest levels of FAT (respectively 33.0, and 35.1% DM) while the horse bean and pea show low values (2.4 and 3.0% MS). Lupine has an intermediate value of 10.7% DM. The seeds of faba bean and pea have higher levels of nitrogen-Extractive (ENA) ( $p < 0.05$ ). The contents of the studied MO resources were similar to each other ( $p > 0.05$ ) (96.9; 96.3; 96.7; 97.6 and 96.4% DM) respectively horse bean, flax, lupine, pea and sunflower. The energy values (UFL / kg DM) of local protein resources studied were statistically comparable between them ( $p > 0.05$ ). Their values are (1.06, 1.2, 1.1, 1.15 and 1.25, respectively, for horse bean, flax, lupine, pea and sunflower). Lupine displays the highest value PDIN ( $p < 0.05$ ) with a grade of 257 g / kg DM. Quantitative analysis of the gases produced, following the fermentation substrates shows that faba bean and pea produce more gas than other species. The values of the digestibility of the organic material were consistent with those of the gas production in vitro. Faba bean and pea had the best coefficients of digestibility, while Lupine average values. Sunflower and flax have the lowest values. VFA concentrations that are the most important source of energy and the values of EM predicted following the incubation of substrates follow the same ranking as the digestibility of organic matter.

**Keywords:** Chemical composition, rumen fermentation, sheep, nutritional value.

**Résumé** - L'évaluation de la composition chimique, la valeur alimentaire et les paramètres de fermentation dans le rumen des ovins des ressources alimentaires protéiques locales a été étudiée sur cinq espèces fourragères autochtones (lupin, pois fourrager, tournesol, lin et fève). La composition chimique de ces ressources protéiques a montré des différences selon les espèces. La teneur en matière azotée totale (MAT) était significativement plus élevée ( $p < 0,05$ ) pour le lupin qui présente une valeur de 38,6% MS, alors que les autres ressources affichent des teneurs statiquement comparables de l'ordre de 24,5 ; 20,4 ; 20,7 et 21,1 % MS respectivement pour la fève, le lin, le pois fourrager et le tournesol. Les graines oléagineuses (lin et tournesol) présentent les teneurs en MG les plus élevées (respectivement 33,0 ; et 35,1% MS) alors que la fève et le pois fourrager affichent des valeurs faibles (2,4 et 3,0% MS). Les graines de lupin présentent une valeur intermédiaire de 10,7% MS. Les graines de fève et du pois fourrager ont des teneurs plus élevées en Extractif non azoté (ENA) ( $p < 0,05$ ). Les teneurs en MO des ressources étudiées étaient similaires entre elles ( $p > 0,05$ ) avec (96,9 ; 96,3 ; 96,7 ; 97,6 et 96,4 % MS) respectivement pour la fève, le lin, le lupin, le pois fourrager et le tournesol. Les valeurs énergétiques (UFL /kg MS) des ressources protéiques locales étudiées étaient statistiquement comparables entre elles ( $p > 0,05$ ). Leurs valeurs sont de (1,06 ; 1,2 ; 1,1 ; 1,15 et 1,25 respectivement pour la fève, le lin, le lupin, le pois fourrager et le tournesol). Le Lupin affiche la valeur la plus



élevée en PDIN ( $p < 0,05$ ) avec une teneur de 257 g/kg MS. L'analyse quantitative des gaz produits, suite à la fermentation des substrats montre que la féverole et le pois fourrager produisent plus de gaz que les autres espèces. Les valeurs de la digestibilité de la matière organique concordent avec celles de la production de gaz *in vitro*. La féverole et le pois fourrager présentent les meilleurs coefficients de digestibilité, alors que le lupin a les valeurs moyennes. Le tournesol et le lin ont les valeurs les plus faibles. Les concentrations en AGVT qui présentent la source la plus importante d'énergie et les valeurs de l'EM prédites suite à l'incubation des substrats suivent le même classement que la digestibilité de la matière organique.

**Mots clés :** composition chimique, fermentation ruminale, ovins, valeur nutritive.

## 1. Introduction

En Tunisie, vue la réduction des surfaces fourragères par rapport aux surfaces céréalières et la mauvaise qualité des fourrages grossiers liée généralement aux conditions climatiques, le recours à l'utilisation des aliments concentrés dans la ration des ruminants est une pratique courante. Les ingrédients de ces aliments concentrés sont importés. A titre d'exemple, la Tunisie importe plus de 300000 t de tourteau de soja annuellement avec un prix de 1,2dt/kg (Selmi et al., 2014). Ceci a suscité un intérêt croissant de la recherche des ressources alternatives de protéines locales (Rouissi et al., 2008). L'objectif de cette étude est d'évaluer les paramètres de fermentation ruminale de quelques ressources protéiques locales (lupin, pois fourrager, tournesol, féverole, lin) susceptibles de remplacer le tourteau de soja afin de les faire entrer dans la formulation des aliments concentrés pour les ruminants.

## 2. Matériels et Méthodes

### 2.1. Matériels utilisés

Cinq ressources protéiques du nord Tunisien : Le pois fourrager (*Pisinium sativum*), La féverole (*Vicia faba*), Lupin (*Lupinus albus*), Lin (*Linum usitatissimum*) et Le tournesol (*Helianthus annuus*), ont été utilisées pour déterminer leurs caractéristiques nutritionnelles et leurs réactions vis-à-vis des micro-organismes du rumen. L'inoculum utilisé est prélevé à partir du rumen des béliers adultes à jeun, hébergés dans la ferme pilote de l'école supérieure d'agriculture de Mateur et recevant une ration de base commune à base de foin d'avoine complémentée par un aliment concentré. La composition chimique des matières premières est enregistrée dans le tableau 1.

**Tableau 1 :** Composition chimique (en % MS) des matières premières protéiques

	MS	NT	MAT	CB	MM	MO	MG	ENA
Féverole	98,0	3,875	24,5	10,2	3,1	96,9	2,4	59,8
Lin	98,1	3,207	20,4	20,0	3,7	96,3	33,0	22,9
Lupin	97,4	6,115	38,6	14,8	3,3	96,7	10,7	32,6
Pois Fourrager	98,7	3,250	20,7	5,7	2,4	97,6	3,0	68,2
Tournesol	98,0	3,338	21,1	20,9	3,6	96,4	35,0	19,4

MS- matière sèche ; NT- azote total ; MAT- matière azotée totale ; CB- cellulose brute ; MM- matière minérale ; MO- matière organique ; MG- matière grasse ; ENA- extractif non azoté.

### 2.2. Analyses effectuées

La détermination du gaz total (CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub>) a été effectuée sur le contenu du rumen filtré à travers quatre couches de gaze chirurgicale, prélevé avant la distribution du repas du matin. Les animaux étaient en diète hydrique la veille du prélèvement. Dans les seringues, on met 0,3 g de substrat (les différentes ressources broyées à 1mm, 10 ml de jus de rumen et 20 ml de salive artificielle, qui sont ensuite placées verticalement dans un bain marie à 39°C. Le taux et l'ampleur de la production de gaz ont été déterminés en relevant des volumes de gaz chaque deux heures d'incubation des seringues jusqu'à 48h d'incubation. Les paramètres caractéristiques de la cinétique de production de gaz sont déduits du modèle exponentiel proposé par Ørskov et Mc Donald (1979).  $Y = a + b(1 - e^{-ct})$ .

La digestibilité de la matière organique des matières premières utilisées (d MO) (Menke et Steingass 1988), la concentration en acides gras volatils totaux (AGVT) et la teneur en énergie métabolisable (EM) (Getachew et al., 2000) ont été prédits à partir de la production de gaz à 24 h d'incubation.

$$D\text{ MO} (\%) = 14,88 + 0,889\text{ GP} + 0,45\text{ MAT} + 0,0651\text{ MM}$$

$$EM (\text{MJ/kg MS}) = 2,20 + 0,136\text{ GP} + 0,057\text{ MAT}$$

$$AGVT (\text{mmol/seringue}) = 0,0239\text{ GP} - 0,0601$$

Avec GP : le volume de gaz produit (ml/300 mg MS) à 24 h d'incubation.

L'azote ammoniacal est déterminé selon la méthode de CONWAY (1962). Dans une cellule circulaire à deux compartiments, dite de CONWAY dont on a lubrifié les couvercles par la vaseline, on place 1 ml de jus de rumen (surnageant) centrifugé à 3000t/min pendant 15 min dont on veut doser la teneur en  $\text{NH}_3$  dans un compartiment extérieur, 1 ml d'acide borique  $\text{H}_3\text{BO}_4$  dans le compartiment intérieur et 1 ml de solution saturée  $\text{K}_2\text{CO}_3$  dans l'autre compartiment extérieur. Au bout de 4 heures, il y a donc une absorption par simple diffusion de la substance volatile à doser à partir du jus vers la solution acide. On titre l'acide borique par l'acide chlorhydrique (HCl) de normalité connue (0.02 N) jusqu'au virage de la couleur vert clair à la couleur rose persistante.

$$\text{Mg de N-NH}_3/\text{ml de jus de rumen} = (V(\text{HCl écha}) - V(\text{HCl témoin})) \cdot N(\text{HCl}) \cdot \text{Ma de N}$$

Avec : V (HCL écha) : le volume de HCl de l'échantillon.

V (HCL témoin) : le volume de HCL du témoin.

N(HCl) : la normalité de HCl de l'ordre de 0,02

Ma de N : la masse atomique de N qui est de 14g.

### 2.3. Analyse Statistique

Les résultats des effets des espèces fourragères sur les paramètres mesurés ont été soumis à une analyse de la variance selon la procédure GLM du logiciel SAS (1989) et comparés par le test des rangs multiples de Duncan(1955). Le modèle statistique utilisé pour tester les paramètres EM, AGV, d MO, N-NH<sub>3</sub> est :  $Y_i = \mu + A_i + E_i$

Les paramètres caractéristiques de la cinétique de production de gaz étaient déterminés suivant la régression non linéaire par l'utilisation de la procédure NLN de SAS(1989) selon le modèle d'Orskov et Mc Donald. (1979) qui est :  $Y = a + b(1 - \exp^{-ct})$

Avec :

Y : volume du gaz en ml produit après chaque temps d'incubation.

a : production de gaz à partir de la fraction soluble facilement fermentescible (ml).

b : production de gaz à partir de la fraction insoluble potentiellement fermentescible (ml).

c : vitesse de production de gaz ( $\text{h}^{-1}$ ).

t : temps d'incubation.

### 3. Résultats et Discussion

La cinétique de production de gaz des différentes ressources utilisées suit un modèle exponentiel de 1<sup>er</sup> degré. En effet, quelle que soit la nature du substrat la courbe de production est divisée en trois parties. Une partie où la production est négligeable qui correspond à une phase de latence dont les microorganismes du rumen s'adaptent aux substrats (la fermentation de la fraction immédiatement fermentescible « a »). Une phase croissante où la production atteint sa valeur maximale (dégradation de la fraction potentiellement fermentescible « b ») et une phase où la production est à sa valeur minimale qu'on appelle « palier ». La production totale de gaz (Tableau 2) était statistiquement élevée ( $p < 0,05$ ) chez les graines de féverole et pois fourrager (97,66 et 92,66 ml/0,3g MS de substrat respectivement). Ce ci peut être expliqué par la quantité importante d'amidon aux niveaux des graines de féverole et pois fourrager. Ce résultat converge avec celui de Larbier et Leclerq. (1992). Les graines de lupin affichent une valeur intermédiaire (69,66 ml/0,3 g MS). Alors que les graines des oléagineuses (lin et tournesol) présentent les valeurs minimales ( $p < 0,05$ ), ceci peut être expliqué par la faible quantité d'amidon au niveau des graines de lin et de tournesol et leurs richesses en MAT et MG favorisant ainsi un milieu riche en nutriments augmentant le nombre des protozoaires dans le rumen et par conséquent un nombre faible en bactéries responsables de la dégradation des parois (Selmi et al., 2009).

**Tableau 2 :** Les volumes (ml) et les paramètres caractéristiques de la production de gaz après l'incubation des semences fourragères dans l'inoculum ovin.

Espèces	Gaz 24 h	A	B	C	Gaz Total
Lin	43 <sup>c</sup>	-2,02 <sup>c</sup>	51,2 <sup>b</sup>	0,08 <sup>a</sup>	46 <sup>c</sup>
Féverole	90 <sup>a</sup>	-0,74 <sup>b</sup>	102,4 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	97,66 <sup>a</sup>
Lupin	64 <sup>b</sup>	0,25 <sup>a</sup>	77,44 <sup>b</sup>	0,06 <sup>a</sup>	69,66 <sup>b</sup>
Tournesol	29,33 <sup>d</sup>	0,61 <sup>b</sup>	31,35 <sup>c</sup>	0,1 <sup>a</sup>	31,66 <sup>c</sup>
Pois Fourrager	86 <sup>a</sup>	-1,24 <sup>c</sup>	102,9 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	92,66 <sup>a</sup>

*a, b, c, d : la moyenne dans une colonne, pour la même source d'inoculum et portant des lettres différents, sont significativement différents au seuil  $\alpha=0.05$ .*

La digestibilité de la MO est variable. Les plus grands coefficients de digestibilité étaient enregistrés pour la féverole et pois fourrager.. La digestibilité de la MO paraît positivement corrélée avec la production des AGV et de l'EM, donc une bonne digestion de l'aliment induit à un meilleur apport énergétique. Les AGV sont la source d'énergie utilisable par les ruminants, elles sont les produits terminaux de la digestion ruminale des hydrates de carbone alimentaires qui comprennent divers composés issus soit des parois cellulaires végétales comme la cellulose, l'hémicellulose et les pectines, soit du contenu cellulaire comme les sucres solubles. Leur concentration dépend de la quantité d'énergie apportée par l'aliment ainsi que de la qualité des glucides qu'il renferme. Ces caractéristiques expliquent la supériorité de la concentration en AGV observée chez la féverole et pois fourrager. Les paramètres estimés sont illustrés dans le tableau 3.

**Tableau3 :** Les paramètres estimés à partir du gaz produit à 24 heures d'incubation.

Espèces	AGV (mmol/seringue)	EM (Kcal/Kg MS)	dMO (%)
Lin	10,217 <sup>c</sup>	9,211 <sup>c</sup>	62,528 <sup>c</sup>
Féverole	21,45 <sup>a</sup>	15,837 <sup>a</sup>	106,117 <sup>a</sup>
Lupin	14,758 <sup>b</sup>	12,832 <sup>b</sup>	87,583 <sup>b</sup>
Tournesol	6,951 <sup>c</sup>	7,398 <sup>c</sup>	50,732 <sup>c</sup>
Pois Fourrager	20,494 <sup>a</sup>	15,837 <sup>ab</sup>	100,805 <sup>ab</sup>

*a, b, c, d : la moyenne dans une colonne, pour la même source d'inoculum et portant des lettres différents, sont significativement différents au seuil  $\alpha=0.05$ .*

L'analyse statistique révèle qu'il y a une différence statistique ( $p < 0,05$ ) entre les différentes matières premières de point de vue concentration en azote ammoniacal. En effet, Les plus grandes concentrations caractérisent le tournesol (57,8 g/L), le lupin (49,86 g/L) et la féverole (47,6 g/L). Ceci peut être expliqué par la richesse de ces trois semences fourragères en protéines brutes facilement utilisables par la microflore microbienne et précisément par les bactéries protéolytiques et les protozoaires. Le lupin renferme la teneur la plus élevée en MAT (38,6%) en le comparant au tournesol (21,1%), féverole (24,5%). Malgré que le tournesol ne renferme pas la plus grande valeur de MAT, il a la concentration la plus élevée en ammoniac. Ceci est expliqué par sa faible concentration en facteurs antinutritionnels. Les valeurs les plus faibles sont enregistrées au niveau des graines de lin et de pois fourrager.

#### 4. Conclusion

L'étude « *in vitro* » des ressources protéiques locales a permis de conclure que la formulation des aliments concentrés pour les ruminants à base de matières premières de la région devient un atout concret pour un élevage durable. En effet, l'utilisation des matières premières protéiques en remplacement du

Tourteau de soja s'avère une demande urgente. Le lupin, le pois fourrager et la fèverole peuvent maintenir voir même améliorer la rentabilité et la qualité du produit d'origine animale. Donc, il est maintenant intéressant d'évaluer ses impacts sur la production et la qualité des produits animaux.

## 5. Références bibliographiques

- D.B. Duncan., (1955).** Multiple ranges and multiple F test. *Biometrics, Volume 11(1), 1- 42.*
- E. J. Conway., (1962).** Micro diffusion analysis and volumetric error 5 th Ed. Crosby Lock Wood and Sons. London.
- E. R. Ørskov and I. McDonald., (1979).** The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agriculture Science, vol 92, 499–503.*
- G. Getachew, H.P.S. Makkar and K. Becker., (2000).** Effect of polyethylene glycol on in vitro degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin- rich browse and herbaceous legumes. *British Journal Nutrition, vol 84, 73- 83.*
- H. Rouissi, B. Rekik, H. Selmi, M. Hammami et A. Ben Gara., (2008).** Performances laitières de la brebis Sicilo-Sarde Tunisienne complémentée par un concentré local. *Livestock Research for Rural Development 20 (7).*
- H. Selmi, A. Bahri, A. Rouissi, M. Baraket, B. Jemmali, M. Amraoui and H. Rouissi., (2014).** Effect of the nature of the energy source (Barley or Triticale) on the production, milk quality and fatty acid profil of Sicilo-Sarde dairy ewes in the milking period. *Journal of new Science, vol 2 (3), 21-26.*
- K. H. Menke and H. Steingass., (1988).** Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development, vol 28, 7- 5.5*
- M. Larbier et B. Leclercq., (1992).** Nutrition et alimentation des volailles. *INRA Edition, 355.*
- SAS User's Guide, (1989).** Version 6.10 for Windows, SAS Inst. Inc., Cary, NC.