

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie générale et Biologie Moléculaire des microorganismes

Thème

Analyse de la cinétique de fermentation in vitro des résidus de tomates et d'oranges et de deux plantes fibreuses, dans différentes sources d'azote selon un modèle logistique

Présenté et soutenu par : Coulibaly Aboubacar Sidiki

Le 29/06/2014

Jury d'évaluation :

Président : Kadem D.E.D, Professeur à l'université Constantine 1

Rapporteur : Haddi M.L, Professeur à l'université Constantine 1

Examineur : Boudemagh A.E.D, Maître de Conférences à l'université Constantine 1

Tutrice : Aggoun A., Doctorante à l'université Constantine 1

Année universitaire 2013 – 2014

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier particulièrement mon directeur de mémoire Professeur Haddi M L qui m'a appris la patience et la responsabilité dans la vie, ce qui est un vrai atout dans le travail au laboratoire et indispensable dans le monde professionnel.

Je remercie vivement les professeurs M. Kadem D.E.D et M. Boudemagh A qui m'ont fait l'honneur d'accepter de juger mon travail, et de faire partie de mon jury.

Mes sentiments de reconnaissance vont également à ma tutrice Mlle Aggoun A. pour avoir accepté de juger ce modeste travail.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°1: Quelques caractéristiques de bactéries rencontrées dans le rumen.....	7
Tableau n° 2 : Composition de différentes solutions étalons et leur concentration.....	22
Tableau n°3 : composition des différents milieux de culture et leur source d'azote.....	24
Tableau n°4 : pH du liquide ruminale, de la salive artificielle et leur mélange avant la fermentation	29
Tableau n°6 : Valeur du pH des différents milieux après la fermentation	30
Tableau n°7 : Valeur du pH des différents milieux après la fermentation	33
Tableau n°8 : pourcentage des Matières sèche, matières organiques et minérales des différents substrats.....	36
Tableau n°9: pH initiaux	37
Tableau n°10 : concentration des sucres totaux des matières fraîche, sèches et organiques.....	40
Tableau n°11 : Paramètres de la production <i>in vitro</i> des résidus agroalimentaires et les plantes fibreuses dans le milieu A.....	41
Tableau n°12 : Paramètres de la production <i>in vitro</i> des résidus agroalimentaires et les plantes fibreuses dans le milieu B.....	42
Tableau n°13: Paramètres de la production <i>in vitro</i> des résidus agroalimentaires et les plantes fibreuses dans le milieu C.....	44
Tableau n°14 : Paramètres de la production <i>in vitro</i> des résidus agroalimentaires et les plantes fibreuses dans le milieu D.....	45
Tableau n°15 : Paramètres de la production <i>in vitro</i> des résidus agroalimentaires et les plantes fibreuses dans le milieu NAZ.....	46
Tableau n°16 : Paramètres de la production <i>in vitro</i> du résidu de carde présents dans différente source d'azote.....	48
Tableau n°17 : Paramètres de la production <i>in vitro</i> du résidu de chrysanthèmes présents dans différente source d'azote.....	50
Tableau n°18 : Paramètres de la production <i>in vitro</i> du résidu de tomates présents dans différente source d'azote.....	52

Tableau n°19 : Paramètres de la production *in vitro* du résidu d'orange présents dans
différente source d'azote.....53

LISTE DES FIGURES

Figure n°1 : Coupe transversale des réservoirs pré-gastrique d'un bovin.....	3
Figure n°2 : observation microscopique d'un protozoaire cilié (Isotrichia).....	9
Figure n°3 : observation microscopique d'un protozoaire cilié (Entodinium).....	9
Figure n°4 : Photo de <i>Chrysanthemum coronarium</i> (chrysanthèmes).....	14
Figure n°5 : Photo de <i>Silybum marianum</i> (cardes).....	15
Figure n°6 : Photo des seringues contenant les milieux de cultures (salive artificielle)....	26
Figure n°7 : Superposition des données expérimentaux et aux données modélisées....	28
Figure n°8 : pH des différents substrats dans le milieu A après la fermentation	30
Figure n°9 : pH des différents substrats dans le milieu B après la fermentation.....	31
Figure n°10 : pH des différents substrats dans le milieu C après la fermentation.....	31
Figure n°11 : pH des différents substrats dans le milieu D après la fermentation.....	32
Figure n°12 : pH des différents substrats dans le milieu NAZ après la fermentation.....	33
Figure n°13 : Quantités des matières sèches, minérales et organiques de différents substrats	36
Figure n°14 : Droite d'étalonnage : en ordonnées la densité optique (DO) en unité d'absorbance et en abscisse la concentration en glucose ($\mu\text{g/ml}$).....	40
Figure n°15 : Courbes des cinétiques de production de gaz par les différents substrats présent dans le milieu A (bicarbonate d'ammonium).....	42

Figure n°16: Courbes des cinétiques de production de gaz par les différents substrats présent dans le milieu B (au glutamate de sodium).....	43
Figure n°17: Courbes des cinétiques de production de gaz par les différents substrats présents dans le milieu C (au nitrate de potassium).....	44
Figure n°18: Courbes des cinétiques de production de gaz par les différents substrats présents dans le milieu D (à l'extrait de levure).....	46
Figure n°19: Courbes des cinétiques de production de gaz par les différents substrats présents dans le milieu NAZ (sans apport d'azote).....	47
Figure N°20: cinétiques de la production de gaz de carde présent dans les cinq milieux de culture différents.....	49
Figure N°21: cinétiques de la production de gaz de chrysanthèmes présents dans Les cinq milieux de culture différents.....	50
Figure N°22: cinétiques de la production de gaz du résidu de tomate présents dans les cinq milieux différents.....	52
Figure N°23: cinétiques de la production de gaz du résidu d'oranges présents dans les cinq milieux de culture différents.....	53
Figure n°24 : Dégradabilité apparente de différents substrats dans le milieu A après la fermentation	54
Figure n°25 : Dégradabilité apparente de différents substrats dans le milieu B après la fermentation	55
Figure n°26: Dégradabilité apparente de différents substrats dans le milieu C après la fermentation	55
Figure n°27 : Dégradabilité apparente de différents substrats dans le milieu D après la fermentation	56

LISTE DES ABREVIATIONS

MS : matière sèche

MF : matière fraîche

MO : matière organique

b1 : la production potentielle de gaz pour un temps d'incubation infini (ml/0.2g de MS).

c1 : la constante de courbure, sans unités

t_½ : le temps (h) au bout duquel la demi- production (50 % de **b1**) est obtenue.

t : temps d'incubation (h)

r_m : vitesse maximale de production de gaz (h⁻¹)

t_m : temps au bout duquel la vitesse maximale est atteinte.

SA : salive artificielle

LR : liquide ruminale

Table des matières

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

Partie 1 : Recherche bibliographique

<i>Chapitre 1 : le tube digestif</i>	2
--	---

1. Anatomie des réservoirs pré-gastriques	2
--	---

1.1 Le rumen	2
--------------------	---

1.2 Le réseau.....	2
--------------------	---

1.3 Le feuillet	2
-----------------------	---

1.4 La caillette.....	3
-----------------------	---

2. physiologie du rumen de bovin	3
---	---

2.1 Caractéristiques physico chimiques du rumen.....	3
--	---

2.2 la flore microbienne du rumen	4
--	---

2.2.1La microflore ruminale.....	4
----------------------------------	---

2.2.1.1Les bactéries.....	4
---------------------------	---

2.2.1.2Les protozoaires.....	8
------------------------------	---

2.2.1.3Les champignons.....	10
-----------------------------	----

2.2.1.4 Les Archaea (bactéries méthanogènes).....	10
---	----

2.2.1.5Les bactériophages.....	10
--------------------------------	----

<i>Chapitre 2 : Les éléments structuraux des sous produits agroalimentaire</i>	10
--	----

1. Eléments structuraux des aliments et leur digestion	10
---	----

1.1 La cellulose.....	10
-----------------------	----

1.2 L'hémicellulose.....	11
--------------------------	----

1.3 La pectine.....	11
---------------------	----

1.4 l'amidon.....	11
-------------------	----

1.5 Les sucres simples.....	12
-----------------------------	----

1.6 Les lipides.....	12
----------------------	----

1.7 Les protéines	12
-------------------------	----

2. principaux aliments destinés à l'alimentation des ruminants	13
---	----

2.1.1 Les fourrages.....	13
2.1.2 Le foin.....	13
2.1.3 Le chrysanthème.....	14
2.1.4 Cardes.....	14

Partie 2 : Partie expérimentale

<i>Chapitre 1 : Matériel et méthodes</i>	16
1. Les substrats utilisés dans la fermentation	16
2. Animaux donneurs de liquide ruminal	16
3. Analyse des caractéristiques de l'inoculum	16
3.1 Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'inoculum.....	16
3.1.1. Le pH.....	16
3.1.2 Le potentiel d'oxydoréduction.....	16
3.1.3 Analyse des caractéristiques microbiologiques de l'inoculum	16
3.1.3.1 Réalisation de la coloration de Gram.....	17
3.1.3.2 Description quantitative et qualitative de la flore ruminale utilisée.....	18
4. Analyse des caractéristiques des différents substrats	18
4.1 Détermination de la capacité tampon des différents substrats.....	18
4.2 Détermination de la matière sèche (MS) des différents résidus (Tomates Carde, Chrysanthème, oranges)	19
4.3 Détermination de la matière organique (MO) et de la matière minérale(MM)	20
4.4 Détermination des sucres totaux de différents substrats	21
5. Etude de la fermentescibilité <i>in vitro</i> des différents substrats	22
5.1 Mesure de la production de gaz <i>in vitro</i>	22
5.1.1 Préparation de la verrerie et du matériel.....	22
5.1.2 Préparation de la salive artificielle de différents milieux de culture.....	23
5.1.3 Préparation de l'inoculum.....	25
5.1.4 Inoculation et incubation.....	25
6. Estimation du pourcentage de dégradabilité apparente	27

7. Détermination des paramètres cinétiques de la production de gaz <i>in vitro</i>	27
--	----

Chapitre2 : Résultats et discussion.....27

1. Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'inoculum et de la salive artificielle..... 29

1.1 Valeurs du pH des différentes composées avant leur fermentation..... .29

1.2 Variation du pH de l'inoculum après la fermentation des différents substrats..... 30

1.3. Le potentiel d'oxydoréduction du mélange (liquide ruminal+salive artificielle)..... 34

1.4 Analyse des caractéristiques microbiologiques de l'inoculum tel quel et leur mélange..... 34

2. La matière sèche, la matière minérale et la matière organique des différents substrats 35

3. La capacité tampon des substrats seuls et le mélanges (liquide ruminal+salive artificielle)..... 37

3.1 Quantité d'ammoniaque ajoutée pour augmenter le pH à 7 38

3.2 Quantité d'acide acétique ajoutée pour abaisser le pH de 7 à 4..... 39

4. La teneur en sucres totaux de différents solutions étalons et substrats..... 40

5. La fermentescibilité *in vitro* de différents substrats..... 41

5.1 Les paramètres cinétiques de la production de gaz *in vitro*..... 41

5.1.1 Analyse par milieu..... 41

5.1.1.1 Milieu A (Source d'azote de bicarbonate d'ammonium) 41

5.1.1.2 Milieu B (Glutamate de sodium)..... 42

5.1.1.3 Milieu C (Nitrate de potassium)..... 44

5.1.1.4 Milieu D (Extrait de levure)..... 45

5.1.1.5 Milieu NAZ (Absence de source d'azote)..... 46

5.1.2 Analyse par substrat..... 48

5 .1.2.1 Substrat carde..... 48

5 .1.2.2 Substrat chrysanthèmes..... 49

5 .1.2.3 Substrat tomates..... 51

5 .1.2.4 Substrat orange..... 52

6. POURCENTAGE DE DEGRADABILITE APPARENTE..... 54

Conclusion générale.....	57
Références bibliographiques.....	58

Introduction générale

Dans de nombreuses régions du monde, le manque de ressources fourragères de bonne qualité constitue un obstacle de taille au développement de la production animale.

En Algérie ou au Mali l'alimentation constitue, incontestablement l'une des contraintes majeures à l'essor de l'élevage. Le développement de l'élevage au Mali est confronté à de nombreuses problèmes parmi lesquelles les difficultés alimentaires, d'importants problèmes de santé animale, en 2010 le ministère de l'agriculture Algérien a enregistré au total un nombre de 2662000 têtes de bovins avec 33 millions d'hectares de terre consacré à la production fourragère, tandis qu'en 2009 le ministère de l'agriculture malien a enregistré un nombre supérieur avec un cheptel 8,6 millions têtes de bovin présent sur le territoire malien.

La valorisation des sous produits dans l'alimentation des ruminants constitue une alternative stratégique au manque de ressources fourragères. Toutefois, ces sous produits ne sont pas efficacement utilisés en dépit des résultats de recherche qui ont montré les bienfaits de leur incorporation dans l'alimentation animale. Au Mali l'alimentation du bétail est basée sur les pâturages naturels (les feuilles d'arachides) et les résidus de récolte sont les sources essentielles avec un supplément d'aliments industriels.

Dans notre travail, nous avons mis en place une série de fermentation *in vitro* de deux résidus agroalimentaire et de 2 plantes fibreuses disponibles en Algérie, il s'agit des résidus de tomates, d'oranges et de deux plantes fibreuses cardes et de chrysanthèmes. Ces résidus ont été soumis à une fermentation *in vitro* avec la flore ruminale bovine dans différents milieux de culture ayant des sources d'azote différentes comme (le bicarbonate d'ammonium, glutamate de sodium, nitrate de potassium, l'extrait de levure) et sans sources d'azote.

Le but est d'étudier la possibilité de leur utilisation dans les rations alimentaires des ruminants.

Partie 1 : Recherche bibliographique

Chapitre 1 : le tube digestif

1. Anatomie des réservoirs pré-gastriques

L'appareil digestif des ruminants se distingue des autres espèces animales par le particularisme anatomique des estomacs. En effet, leur appareil est composé de trois compartiments placés avant la caillette qui est le véritable estomac. Alors que les 3 compartiments sont le rumen (panse), le réseau (réticulum) et le feuillet (omasum) (Thivend *et al.*, 1985) .

1.2 Le rumen

Le rumen, est le plus volumineux des estomacs, il renferme de 70 à 75 % du contenu du tube digestif et occupe 50 à 60 % du volume réservoirs pré-gastriques.

La surface intérieure du rumen, sauf des piliers charnus qui le sépare en plusieurs sacs, est formé par un épithélium corné, hérissé de papilles de formes et de dimensions variables, entassé les unes contre les autres, et qui jouent un rôle cruciale dans l'absorption des produits du métabolisme des microorganismes du rumen : acides gras volatils (A. G. V.), ammoniac (Thivend *et al* 1985).

1.3 Le réseau

Le réseau qui tire son nom a sa muqueuse réticulé et aussi éparpillé par de papille absorbantes, joue un rôle cruciale dans le déplacement des particules alimentaires. la motricité de l'ensemble des réservoirs pré-gastrique est assuré par la contraction qui partent du réseau vers les autres estomacs (Thivend *et al.*, 1985)

1.5 Le feuillet

Est un organe ovoïde dont la partie intérieure contient de nombreuses lames recouvertes d'un épithélium kératinisé qui à des papilles. la fin du feuillet est située près d'un canal qui communique en amont avec le réseau par un sphincter (sphincter réticulo-omasal), et en aval avec la caillette par un orifice beaucoup plus grand et susceptible d'augmenté de volume (Thivend *et al* 1985).

1.6 La caillette

Est le véritable estomac et le seul réservoir sécrétoire des ruminants. Sa cavité est tapissée par une muqueuse glandulaire, analogue à celle des monogastrique, toujours protégé par une couche de mucus (Thivend *et al* 1985).

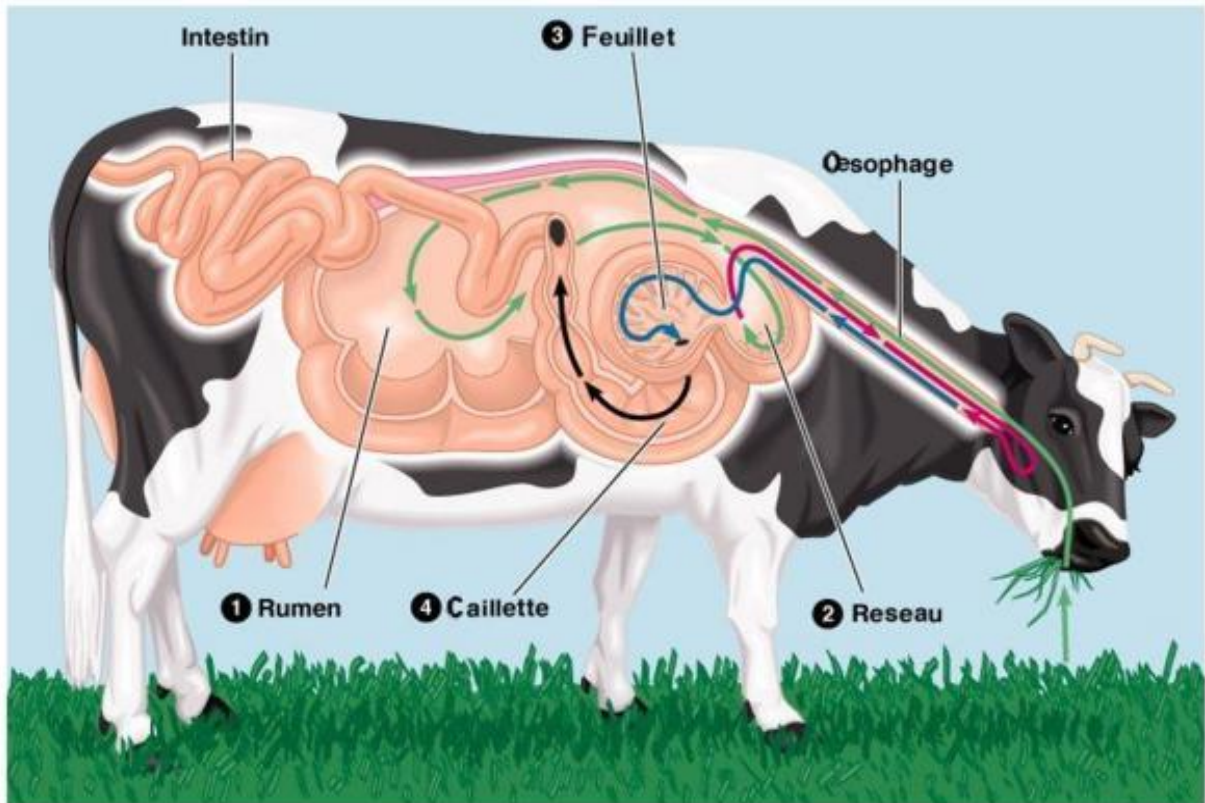


Figure n°1 : Coupe transversale des réservoirs pré-gastrique d'un bovin

2. physiologie du rumen de bovin

2.1 Caractéristiques physico chimiques du rumen

- La température

La température du rumen est constante et relativement élevée 39 à 40°C (Thivend et al., 1985).

- Le pH

Le pH du rumen est généralement compris entre 6 et 7 et il est tamponné par une grandes quantités de bicarbonate et de phosphate contenus dans la salive (Thivend et al., 1985).

- La pression osmotique

une pression osmotique constante proche de celle du sang (Thivend et al., 1985).

- Potentiel d'oxydo-reduction

Le potentiel d'oxydoréduction varie entre -250 à -400 millivolts (mV) (milieu fortement dominée par l'anaérobiose) (Thivend et al., 1985).

2.2 La flore microbienne du rumen

2.2.1 La microflore ruminale

Le rumen est un écosystème microbien complexe composé de plusieurs catégories de populations microbiennes : bactéries, archaebactéries, protozoaires, champignons et virus (Thivend *et al.*, 1985).

2.2.1.1 Les bactéries

Les bactéries sont les microorganismes les plus nombreux, leur concentration peut atteindre 4.10^{10} cellules vivantes/ml et représente 50% de la population microbienne. Elles sont essentielles pour les ruminants qui ne peuvent survivre sans elles, cette biomasse microbienne est composée essentiellement par des bactéries anaérobies strictes non sporulées. Plus de 200 espèces, 39 genres et 63 espèces ont été décrits par (Thivend *et al.*, 1985).

Les bactéries du rumen ont été classées selon leur capacité à dégrader certains substrats parmi lesquelles on a les bactéries cellulolytiques, pectinolytiques, amylolytiques, uréolytiques, etc... (Thivend *et al.*, 1985).

Les bactéries cellulolytiques ne peuvent utiliser quelque chose d'autre que la cellulose et ses produits d'hydrolyse, alors que certaines bactéries comme *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Bacteroides ruminicola*, *Selenomonas ruminantium* peuvent utiliser plusieurs sources d'énergie, de même chez les *Bacteroides amylophilus* qui ne fermentent que les dextrines, le maltose et l'amidon (Thivend *et al.*, 1985).

Plusieurs espèces sont protéolytiques, qui utilisent ou dégradent les acides aminés ou les peptides, mais une minorité d'espèces comme *Megasphaera elsdenii* peuvent se développer à partir des acides aminés en l'absence de glucides comme source d'énergie (Thivend *et al.*, 1985).

- **Les bactéries vivant libres, associées à la phase du liquide ruminale**

Une structure fibreuse, polyholosidique (glycocalyx) est présente chez cette bactérie présente dans le rumen. Ce glycocalyx est suspecté avoir une fonction de protection contre les bactériophages ou d'autres agents antibactériens (Thivend *et al.*, 1985).

- **Les bactéries associées avec les particules alimentaires**

à la surface des particules alimentaires se fixe environ 50% de la population bactérienne, au sein duquel cohabitent plusieurs espèces bactériennes. ce genre d'adhésion est réalisé par des bactéries dégradant les polymères pariétaux sur les parois végétales surtout sur les tissus cellulosiques Selon (Thivend *et al.*, 1985).

- **Les bactéries associées à l'épithélium ruminale**

Des grandes études ont été mener sur ces bactéries par le microscope électronique (Thivend *et al.*, 1985). Le glycocalyx polyholosidique joue un rôle crucial dans la fixation de cette bactérie sur l'épithélium squameux stratifié qui présente des parties spécifiques d'un polymère anionique. Les différentes formes observés sont des diplocoques, des coques et des bacilles Gram positif et des anaérobies facultatifs (Thivend *et al.*, 1985).

- **Les bactéries attachées à la surface des protozoaires**

Cette population bactérienne peut être aux nombre de 1 à 10% de l'ensemble de la flore du rumen. La taille de cette bactérie à une influence sur le nombre de protozoaire fixé sur cette dernières (Amokrane Serine, 2010).

- **Les bactéries cellulolytiques**

Les bactéries cellulolytiques apparaissent dans le rumen trois à quatre jours après la naissance de l'animal et leur nombre varie de 10^7 à 10^8 bactéries/ml.

Ces bactéries s'attachent sur les fibres et sécrètent des enzymes (complexe enzymatique : cellulase) dont le rôle est d'hydrolysé la cellulose, l'hémicellulose et la cellobiose.

Le métabolisme et le développement de ces bactérie est lent par contre, elles se développe mieux avec les régimes riches en fourrages, leur pH optimal de croissance est inférieur à 6, avec une présence maximale de 25% de la population bactérienne.

Il existe quatres types de bactéries cellulolytiques dans le rumen :

Bacteroides succinogenes

Ruminococcus albus

Ruminococcus flavefaciens

Butyrivibrio fibrisolvens

- **Les bactéries hémicellulolytiques**

Ces microorganismes jouent un rôle important dans l'estomac du bovin, avec un rôle d'hydrolyse de cellulose et l'hémicellulose, et leur population ne dépasse jamais 25% de la population bactérienne et très sensible au pH acide qui nécessite un PH inférieur à 6, et nécessite une alimentation riche en fourrages pour bien se développer, ces microorganismes dégradent l'aliment en produisant de l'acétate et aussi le CO₂.

Il existe deux types de bactéries hémicellulolytiques dans le rumen :

Bacteroides ruminicola

Butyrivibrio fibrisolvens

- **Les bactéries amylolytiques**

Ces microorganismes aiment une alimentation riche en grain qui favorise leur développement, et tolèrent un pH plus acide par rapport aux bactéries cellulolytiques avec une valeur respective de 5 à 6. mais avec un pH trop acide les lactobacilles prennent la tête de prédominance.

Parmi les bactéries amylolytiques *Streptococcus bovis*, sa présence semble être nocive pour le bovin, son nombre se double chaque 13 minutes et dégrade beaucoup d'amidon et de sucre en produisant un pH extrêmement bas qui peut être responsable de l'acidose.

Il existe trois types de bactéries amylolytiques dans le rumen :

Bacteroides amylophilus

Streptococcus bovis (aérobie facultatif)

Bacteroides ruminicola

Tableau n°1: Quelques caractéristiques de bactéries rencontrées dans le rumen

Substrats dégradés	Espèces bactériennes	Caractéristiques morphologiques et le Gram	Regroupement
Pectine	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	Bacille Gram négatif	Isolés ou en courtes chaînes ou en rosettes
	<i>Butyrivibrio fibrislovens</i>	Bacille Gram négatif	En paire ou en chaînette
	<i>Prevotella ruminicola</i>	Bacille Gram négatif	Chaînette
	<i>Streptococcus bovis</i>	Cocci Gram positif	Chaînette
	<i>Lachnospira multiparus</i>	Bacille Gram positif	Isolés
	<i>Succinivibrio</i>	Vibrion Gram négatif	Isolés
	<i>dextrinosolvens</i> <i>Eubacterium ruminantium</i>	Bacille Gram positif	Isolés ou en paires, ou en courtes chaînes
Amidon	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	Bacille Gram négatif	Isolés ou en courtes chaînes ou en rosettes
	<i>Butyrivibrio fibrislovens</i>	Bacille Gram négatif	En paire ou en chaînette
	<i>Selenomonas ruminantium</i>	Bacille gram négatif	Isolés
	<i>Streptococcus bovis</i>	Cocci Gram positif	Chaînette
	<i>Ruminobacter amylophilus</i>	Bacille Gram négatif	Isolés
	<i>Succinivibrio</i>	Vibrion Gram négatif	Isolés
	<i>dextrinosolvens</i> <i>Prevotella ruminicola</i>	Bacille Gram négatif	Chaînette
Cellulose	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	Cocci Gram positif	Longues chaînes de cellules
	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	Bacille Gram négatif	Rosettes
	<i>Ruminococcus albus</i>	Cocci Gram négatif ou Gram+	Diplococci
	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	Cocci Gram négatif ou Gram+	Isolés, diplocoques ou en chaînettes
	<i>Clostridium cellobioparum</i> <i>Clostridium longisporum</i>	Bacille Gram positif	Bacille Gram positif

Xylane	<i>Treponema bryantii</i>	Bacilles hélicoïdal Gram négatif	Isolés ou en courtes chaînes ou en rosettes
	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	Bacille Gram négatif	Rosettes
	<i>Eubacterium ruminantium</i>	Bacille Gram positif	Isolés ou en paires, ou en courtes chaînes
	<i>Eubacterium ruminantium</i>	Bacille Gram positif	Isolés ou en paires, ou en courtes chaînes
	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	Cocci Gram négatif ou Gram+	
Protéine	<i>Prevotella ruminicola</i>	Bacille Gram négatif	Chaînette
	<i>Prevotella ruminicola</i>	Bacille Gram négatif	Chaînette
	<i>Ruminobacter amylophilus</i>	Bacille Gram négatif	
	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	Bacille Gram négatif	En paire ou en chaînette
	<i>Streptococcus bovis</i>	Cocci Gram positif	Chaînette

2.2.1.2 Les protozoaires

Les protozoaires du rumen sont essentiellement des ciliés mais on observe également la présence de flagellés, en nombre plus réduit (Thivend *et al*, 1985).

Ces protozoaires sont des organismes unicellulaires, de grande taille qui varie entre (20 à 200 microns), dont leur nombre est de 10^4 à 10^6 cellules/ml présent dans le liquide ruminal. Les espèces ciliées sont des anaérobies possèdent des cils vibratiles qui permettent leur déplacement, parmi ces protozoaires ciliés on a :

- *Holotriches* représente (25%) avec des cils sur toute la surface

Parmi les *holotriches*, on a les genres *Isotricha* et *Dasytricha*, qui représente la majorité des *holotriches*.

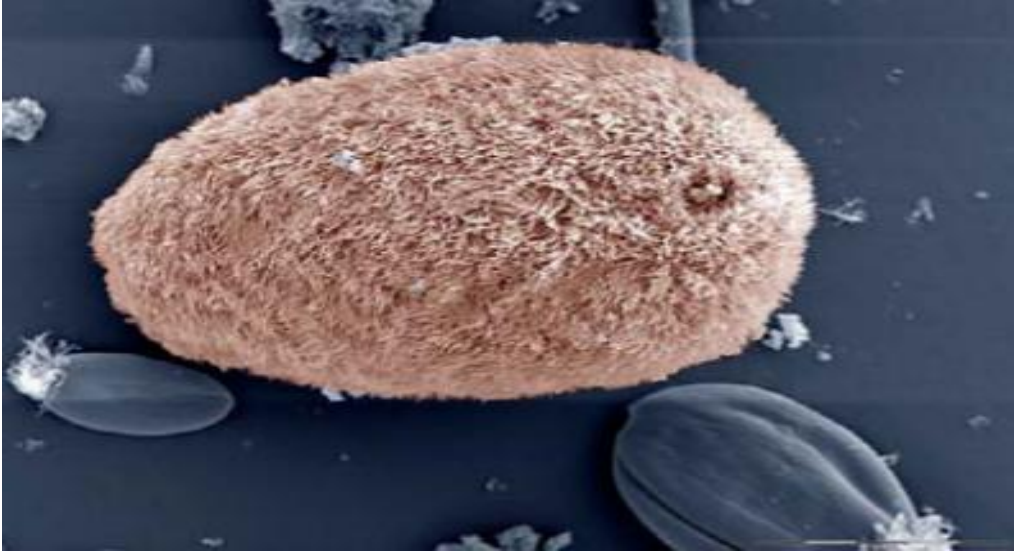


Figure n°2 : observation microscopique d'un protozoaire cilié (*Isotrichia*).

- *Oligotriches* représente (75%) avec des cils oraux

Parmi les *Oligotriches* on a les *Entodinium* qui représente la majorité des ciliées



Figure n°3 : observation microscopique d'un protozoaire cilié (*Entodinium*).

Ces protozoaires sont des anaérobies strictes avec un pH optimum de 5.5 à 7.6. ils se développent mieux avec une alimentation riche en énergie, et ingèrent des particules alimentaires, leur présence dans le rumen permet la régulation de la population bactérienne et ainsi d'autre protozoaire. Les protozoaires sont incapable de consommé l'azote protéique et de synthétisé la vitamine qui nécessite l'intervention des bactéries.

2.2.1.3 Les champignons

Les champignons font partie des microorganismes du rumen avec une population de 10^3 à 10^5 zoospores/ml, qui représente 10% de la population microbienne.

Les zoospores peuvent être mono flagellés ou pluri flagellés. En quelque jours seulement ces champignons et plus les bactéries cellulolytiques apparaissent dans le rumen après la naissance. Les champignons ont la capacité d'hydrolyser la cellulose, hémicellulose, et la pectine (Amokrane S, 2010).

2.2.1.4 Les Archaea (bactéries méthanogènes)

Il s'agit des bactéries anaérobies strictes, atteint généralement 10^8 cellules/ml du liquide ruminal.

Ces microorganismes méthanogènes sont des membres exclusifs du domaine des (Archaea). Cette flore peuvent être distingués des autres microorganismes par la production de méthane (CH₄) comme principal produit de fermentation, parmi les souches productrices de gaz on a : *Methanobacterium formicum*, *Methanobrevibacter ruminantium*.

2.2.1.5 Les bactériophages

Une grande diversité des bactériophages à été identifiée parmi les microflores ruminales, ces bactériophages ont la capacité de lysé *Streptococcus bovis* et *Bifidobacterium thermophilum* (Amokrane S, 2010).

Chapitre2 : Les éléments structuraux des sous produits agroalimentaires

1. Eléments structuraux des aliments et leur digestion :

Les sous produits des industries agroalimentaires sont des résidus de fruits et légumes traités par des moyens mécaniques ou chimiques et sont constitués d'une matrice végétale, les principaux constituants (cellulose, amidon, pectine, protéines, sucres simples etc....) de la cellule végétale peuvent s'y retrouver.

1.1 La cellulose

La cellulose joue un rôle structurel important dans les plantes, qui a une structure homopolymère de glucose reliées par β -1, 4. Selon (Fonty *et al.*, 1988) L'hydrolyse de la

cellulose est réalisée par l'action synergique des cellulases (sous l'action par des bactéries, protozoaire et les champignons).

Ces cellulases sont classées en trois groupes :

- Les endoglucanases : sépare les liaisons glycosidiques en β -1, 4 à l'intérieur de l'homopolymère de glucose.
- Les exoglucanases : réalisent une dissociation de cellobiose à partir de l'extrémité non réductrice des polymères de glucose.
- Les B-glucosidases (cellobiases) : scindant le cellobiose en deux glucoses.

1.2 L'hémicellulose

L'hémicellulose est l'un des composants essentiels de la paroi cellulaire végétale. Les 3 éléments structuraux de glucides est : la cellulose, l'hémicellulose, la pectine, alors que la dégradation de l'hémicellulose est de 80 à 90%, sa dégradation est produit par des bactéries hémicellulolytique.

1.3 La pectine

La pectine est un Polymères de polysaccharides acides, Composés par une chaîne principale de molécules d'acide uronique liées en en β -1. Sa digestion est très facile par les microorganismes (bactéries pectinolytiques).

Les glucides représentent 75% de la masse du tissus végétale dont la pectine fait partie des éléments structuraux de ces glucides. Dans la digestion des glucides la pectine se dégrade en entier (100%).

1.4 L'amidon

L'amidon représente des glucides non structuraux, sa digestion se fait par des bactérie amylolytiques et certains protozoaires. Les chaines d'amidon sont découpées par α -amylase pour donner des polyholosides qui sera ensuite transformé en maltose (2 glucoses). Ces microorganismes ont un pH optimum de 5,5 à 6,6, et possède une croissance et un métabolisme rapide, leur dégradation se réalise par des bactéries amylolytiques.

1.5 Les sucres simples

Les bactéries absorbent les sucres simples et la transforme en pyruvate dont il participe à la formation des acides gras volatils (acétate, propionate, butyrate) selon les bactéries.

1.6 Les lipides

La cutine et la subérine sont des lipides spéciaux et présente une grande importance dans la structure de beaucoup de paroi cellulaire végétales. Le plus important fonction de ces lipides une matrice dans la quelle sont recouvert des cires-composés lipidiques à longues chaînes. Les cires des assises empêchent la perte d'eau et d'autres molécules à la surface des plantes grâce à leur composition en cutine ou de la subérine. La dégradation de ces lipides dans le rumen se fait par des bactéries comme : *Anaerovibrio lipolytica* c'est une bactérie Gram négatif qui se présente sous forme d'un bacille isolé.

1.7 Les protéines

Chez les vaches les besoins en matière azoté est de 350gramme/jour, il existe deux sortes de protéines végétales : les protéines solubles et insolubles.

Les protéines solubles représente 60%, et ils sont localisées dans les chloroplastes, ces protéines sont rapidement utilisées par les bactéries avec une protéolyse entier en 2 heures(h). Les protéines insolubles représente 40%, c'est des organites intracellulaire comme les mitochondries et aussi les membranes, la dégradation des glucides structuraux favorise la libération rapide de ces protéines insolubles, les microorganismes sont incapable d'utiliser les protéines liées à la cellulose.

Les protéines du rumen sont dégradées à 50% par des bactéries protéolytiques en acide aminé et NH₃. Ces microorganismes ont la possibilité d'utiliser ces acides aminés et la transformé en NH₃ et en acide gras volatils.

2. principaux aliments destinés à l'alimentation des ruminants :

2.1 Les aliments fibreux

2 .1.1 Les fourrages

Il s'agit des aliments spécifiquement consommés par les ruminants (et les équidés) en raison de la particularité de leur appareil digestif. Les fourrages sont des aliments constitués principalement par les tiges, les feuilles et les fleurs des plantes fourragères naturelles ou cultivées.

Les plantes fourragères utilisées pour l'alimentation des bovins et des ovins sont nombreuses: l'herbe (qu'elle soit issue de prairies naturelles ou cultivées), les légumineuses (luzerne, trèfles,...), les céréales utilisées en plante entière (maïs, sorgho, ...), la betterave, le colza,...

Les fourrages ne poussent pas de façon régulière toute l'année. Par exemple, l'herbe pousse abondamment au printemps, un peu moins en automne et pas ou très peu en été (sécheresse) et en hiver (température trop froide).

Pour faire face aux besoins des animaux en toutes saisons, il est nécessaire de conserver le fourrage. Plusieurs méthodes sont utilisées :

- le séchage naturel qui permet de produire le foin.
- le séchage en grange par ventilation du foin récolté, méthode permettant d'améliorer le séchage naturel
- la déshydratation qui conduit au fourrage déshydraté, conditionné en bouchons ou granulés.

- l'enrubannage qui utilise le même principe de conservation que l'ensilage mais à l'échelle d'une balle de foin que l'on a préalablement mise en anaérobiose en l'entourant d'un film plastique spécifique.

2.1.2 Le foin :

Le foin est de l'herbe (ou des légumineuses) fauchée, puis séchée au sol par le soleil avant récolte. Dans certains pays comme le Mali, l'herbe est séchée par air chaud propulsé

par le vent sec et chaud, fournissant ainsi un foin de très bonne qualité. En raison du séchage, les foins ne contiennent plus que 15 à 20 % d'eau.

2.1.3 Le chrysanthème

Ce genre comprend de très nombreuses espèces (plus de 200) de plantes herbacées. Ces espèces sont annuelles ou vivaces, et la plupart sont rustiques. *Chrysanthemum coronarium*, se trouve parmi les espèces annuelles, le chrysanthème des jardins, a de longues tiges a port dresse portant de grandes fleurs généralement jaunes.



Figure n°4 : photo de *Chrysanthemum coronarium* (chrysanthèmes).

2.1.4 Cardes

(*Silybum marianum*), est une plante de la famille des Astéracées, seule représentante connue du genre *Silybum*. Cette plante bisannuelle, robuste et de grande taille possède de grandes feuilles vert pâle brillantes, et ondulées, sont bordées de dents épineuses à pointe jaune très pointu.



Figure n°5 : photo de *Silybum marianum* (cardes).

Partie 2 : Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

1. Les substrats utilisés dans la fermentation

Nos échantillons d'études comportent quatre type de substrats:

Des fourrages naturels fibreux : représentés par :

- Chrysanthèmes (*Chrysanthemum coronarium*)
- Cardes (*Sylibum marianum*)

Les résidus d'oranges et de tomates ont été fabriqués selon les protocoles appliqués dans le complexe industriel CAB (conserverie alimentaire à Annaba.

2. Animaux donneurs de liquide ruminal

Le liquide ruminale est prélevé a partir d'un bovin en provenance d'un abattoir d'Elkhroub (Constantine –Algérie). Ces animaux sont généralement alimentés par le foin.

3. Analyse des caractéristiques de l'inoculum

3.1 Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'inoculum

3.1.1 Le pH

Le pH joue un rôle important dans le développement des microorganismes. La mesure de ce paramètre métabolique constitue l'un des indices d'appréciation de l'activité fermentaire de la flore ruminale.

Le pH du liquide ruminale est mesure directement après son arrivée au laboratoire a l'aide d'un pH mètre portable a électrode en verre préalablement étalonne.

3.1.2 Le potentiel d'oxydoréduction

Le potentiel d'oxydoréduction est mesure grâce à un couple d'électrode, une de référence et l'autre de mesure. Il est d'autant plus élevé (valeur positive) que le milieu est oxydant, tandis que les valeurs négatives correspondent à un milieu réducteur.

3.1.3 Analyse des caractéristiques microbiologiques de l'inoculum

La flore ruminale est analysée par un examen microscopique de trois types de frottis :

- Frottis du liquide ruminale frais (tel quel) dès son arrivée.
- Frottis du liquide ruminale filtré à travers 2 couches de mousseline.
- Frottis du liquide ruminale mélangé avec les quatres milieux de cultures séparément.

Trois lames pour chaque frottis sont étalées, elles sont par la suite soumises à la coloration de Gram des anaérobies selon Kopeloff.

3.1.3.1 Réalisation de la coloration de Gram

a- Composition des réactifs

- Solution de cristal violet alcalin (solution A, constituée de 10 g de cristal violet dans 1000 ml d'eau distillée + solution B, constituée de 50 g de NaHCO_3 dans 1000 ml d'eau distillée).
- Solution d'iodo-ioduré (KI+I).
- Solution de mélange décolorant (constituée de 300 ml d'alcool acétone + 700 ml d'éthanol 95%).
- Solution de contre colorant « **Safranine** »

b- Procédure de la coloration :

Parmi ces étapes on a :

- Faire agir la solution A du cristal violet sur la préparation et ajouter 5 gouttes de la solution B, la durée totale est de 30 secondes.
- Couvrir le frottis avec la solution du mordant (KI+I) pendant 60 secondes.
- Rincer à l'eau de robinet (jet réduit) pendant 2-3 secondes.
- Eponger l'excès d'eau avec un papier buvard propre.
- Décolorer au maximum par le mélange acétone-alcool éthylique pendant 15-20 secondes.
- Rincer à l'eau.
- Eponger l'eau en excès.
- Contre colorer avec la safranine pendant 20 secondes.
- Rincer à l'eau et sécher avant l'observation microscopique.

3.1.3.2 Description quantitative et qualitative de la flore ruminale utilisée

Une analyse morphologique a été faite en analysant cinq champs microscopiques au grossissement 1000 fois, pour chaque lame. Le type de Gram (Gram+, Gram-), Le pourcentage de chaque forme est défini comme le nombre de bactéries ayant une forme particulière par rapport au nombre total de bactéries présentes par champ.

4. Analyse des caractéristiques des différents substrats (oranges, tomates, cardes, chrysanthèmes)

4.1 Détermination de la capacité tampon des différents substrats

a- Définition

La capacité tampon intrinsèque a été définie comme la capacité d'un aliment à maintenir le pH de son milieu aqueux ou à résister à un changement du pH après l'addition d'un acide ou d'une base (Giger-Reverdin *et al.*, 2002).

$$\text{Capacité tampon} = \frac{d C_B}{d \text{pH}}$$

Où : dC_B exprime la quantité de base ou d'acide nécessaire pour produire une variation de pH exprimée $d\text{pH}$.

Expression des résultats de la capacité tampon :

A partir de cette équation nous avons exprimé arbitrairement la capacité tampon comme étant le nombre milliéquivalent d'acide acétique par la variation du pH de (7 à 4), $d \text{pH}=3$ unité de pH ceci pour 1g de matière sèche.

b- Solutions utilisées

-Solution d'acide acétique **0.1N** : la solution a été préparée à partir de l'acide acétique pur (densité : 1.05, MM : 60.05 g/mol, pureté : 99-100%).

-Solution d'ammoniaque **0.1N** : la solution a été préparée à partir de l'ammoniaque $\text{NH}_3 \text{OH}$ (densité: 0.91, MM: 35.05 g/mol, pureté: 25%).

c- Méthode

La détermination de la capacité tampon est réalisée en suivant la méthode décrite par Giger-Reverdin et al., 2002.

-Préparation de l'échantillon

La solution employée pour la détermination de la capacité tampon est préparée en mélangeant 1g de matière sèche de chaque substrat dans 20 ml d'eau bidistillée. Le pH initial de la solution est celui obtenu après 2 heures d'agitation.

-La titration

Sous une agitation continue, on augmente d'abord le pH initial à 7 en ajoutant la solution d'ammoniaque 0.1N, pour le ramener par la suite à 4 en ajoutant progressivement l'acide acétique 0.1N, puis on établit la courbe de chute du pH.

4.2 Détermination de la matière sèche de différents substrats (Tomates Carde, Chrysanthème, oranges)

a- Définition

Le pourcentage est déterminé après perte de poids de l'échantillon par évaporation de l'eau à l'étuve jusqu'à la constance de la masse de l'échantillon.

b-Mode opératoire

Dans des creusets tarée au préalable, nous avons introduit 1 gramme de l'échantillon à analyser. Nous avons porté les boites dans une étuve réglée à 105°C, pendant 24 heures. Après 24heures, les boites sont placées dans un dessiccateur pendant au moins une demi-heure pour refroidir dans une atmosphère sèche (Absence d'humidité).

$$(T+MS)-T$$

$$\% MS = \frac{\text{-----}}{\text{-----}} \times 100$$

$$(T+MF)-T$$

Dans laquelle :

MS : matière sèche du substrat.

MF : matière fraîche du substrat.

T+MS : représente le poids de la boite de pétri après séchage (tare + résidus) (g).

T+MF : représente le poids de la boîte de pétri avant séchage (tare + quantité du résidu fraîche) (g).

T : représente le poids de la boîte de pétri vide (tare) (g).

Le taux d'humidité est calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ d'humidité} = 100 - \% \text{ MS}$$

4.3 Détermination de la matière organique et de la matière minérale

a-Définition

Lorsque l'échantillon, préalablement séché, est soumis à une incinération à 520°C, la matière organique se consume et la matière résiduelle constitue la matière minérale. Toutes les analyses sont effectuées en triple.

c- Mode opératoire

Une quantité comprise entre (0.5-1. g) de matière sèche déjà obtenue est pesée dans un creuset en porcelaine préalablement taré, celui-ci est ensuite mis dans un four à moufle 520°C pendant toute la nuit. Nous le laissons refroidir à l'intérieur du four avant de le mettre dans le dessiccateur pendant au moins une demi-heure. Le résidu obtenu représente les cendres qui, par différence, donne la matière organique contenue dans l'échantillon. Le pourcentage des cendres est calculé par l'expression suivante :

$$\% \text{ MM} = \frac{(\text{T+MM})-\text{T}}{\text{T} +(\text{T+MF})} \times 100$$

Dans laquelle :

T+MM : représente le poids du creuset après incinération (tare + matière minérale).

T +MF : représente le poids du creuset après dessiccation (tare+matière fraîche) .

T : représente le poids du creuset vide.

La teneur en matière organique représente le complément à 100 des cendres :

$$\% \text{ MO} = 100 - \% \text{ MM}$$

% MO : représente le pourcentage en matière organique du substrat incinéré.

4.4 Détermination des sucres totaux de différents substrats

D'après felles *et al* 1991, permet de doser les oses en utilisant le phénol et l'acide sulfurique concentré, en présence de ces deux réactifs, les oses donnent une couleur jaune-orange dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des glucides, la densité optique est déterminée entre 450 à 550 nm.

4.4.1 MATERIEL

a- Matériel biologique

- Tomates
- oranges
- cardes
- chrysanthème.

b-Solvants et réactifs

Les principaux solvants et réactifs utilisés pour les analyses sont : l'acide sulfurique (95%) et le phénol (5%), Glucose, Eau distillée pour le dosage des sucres totaux.

4.4.2 Mode Opérateur

Avant La préparation des solutions mères est primordiale (Solution étalons, cardes, chrysanthèmes, tomates, oranges) qui vont servir à faire des différentes dilutions, parmi ces dilutions on a :

La concentration de carde avec une solution mères d'un (1) gramme de cardes dans 100ml d'eau bidistillée cette solution servira à faire des sous dilutions pour avoir des concentrations 0,02g et 0,03g (grammes) dans 100ml d'eau bidistillée (on obtient ces concentration en ajoutant 0,2ml de la solution mère dans 10 ml d'eau bidistillée pour obtenir une concentration 0,02g/100ml d'eau bidistillée pareil pour obtenir une concentration 0,03g/100ml d'eau bidistillée), cette méthode est aussi répété pour avoir ces concentrations chez les autres substrats (cardes chrysanthèmes, oranges), et celle des tomates est obtenue en ajoutant 1,1ml de la solution mère dans 10ml d'eau bidistillée qui nous permet d'obtenir une concentration 0,1g/100ml d'eau bidistillée..

Ensuite on prépare 10 flacons étiquetés qui vont contenir différents concentration des solutions étalons, le tableau (2) suivant contient la concentration de ces différentes solutions étalons :

Tableau n° 2 : Composition de différentes solutions étalons et leur concentration.

Solutions étalons (Numéro des flacons)	Concentration en mg/ml	Volumes des solutions mères	Volume d'eau distillée (ml)
1	10	2,5	247,5
2	20	5	245
3	30	7,5	242,5
4	40	10	240
5	50	12,5	237,5
6	60	15	235
7	70	17,5	232,5
8	80	20	230
9	90	22,5	227,5
10	100	25	225

Ensuite on prélève 1ml de chaque solution qui vont être mélangé avec 1ml de phénol et 5ml d'acide sulfurique, bien agiter puis laisser reposer 10 min a Température ambiante incuber a 30 °C pendant 20 min lecture spectrophotomètre a 488 nm.

5. Etude de la fermentiscibilité *in vitro* des différents substrats

5.1 Mesure de la production de gaz *in vitro*

La technique de mesure de la production de gaz *in vitro* a été réalisée en suivant les étapes suivantes :

1^{ère} étape : préparation de la verrerie et du matériel.

2^{ème}étape : préparation de la salive artificielle (Milieu de culture)

3^{ème}étape : Préparation de l'inoculum

4^{ème}étape : Inoculation et incubation

5.1.1 Préparation de la verrerie et du matériel

- 90 seringues en verre aseptisables dont la capacité de contenir est de (0 à 100ml)
- 6 flacons en verre stérilisables qui peuvent contenir jusqu'à 500ml.

- Système de transfert : consiste en deux tuyaux attachés chacune à des seringues (mini bioréacteur), l'un sert à transvaser le mélange du liquide ruminal et la salive artificielle (milieu de culture) , et l'autre à transférer le CO₂.
- La colonne de réduction (*Heated Copper Catalyst*) : comporte deux bouteilles de gaz ; l'une à hydrogène et l'autre à CO₂, et un cylindre contenant le cuivre. Le CO₂ est préalablement purifié par piégeage d'éventuelles traces d'oxygène par passage dans un four de copeaux de cuivre chauffé à 300°C. L'oxygène résiduel réagit alors avec le cuivre pour former du **CuO**.
- Le système sert globalement à fournir une source de CO₂ pur pour assurer l'anaérobiose au cours des différentes étapes du procédé.
Instrument de mesure qui sert à mesurer les gaz produits dans les seringues pendant la fermentation est appelée « pied à coulisse ».

5.1.2 Préparation de la salive artificielle de différents milieux de culture

La salive artificielle est une solution minérale qui joue le rôle d'une part d'un tampon et d'autre part, elle constitue un apport de sels minéraux et d'oligoéléments aux microorganismes du rumen, nous avons préparé quatre (4) milieux de culture comme salive artificielle, dont quatre contiennent des sources d'azotes différentes et les 2 autres ne contiennent pas de source d'azote :

Tableau n°3 : composition des différents milieux de culture et leur source d'azote :

Milieu A	Composition	Quantités
NH ₄ HCO ₃ Azote minéral (NH ₄ ⁺)	NH ₄ HCO ₃ NAHCO ₃ Eau distillée Résazurine Solution réductrice Na ₂ S Eau distillé	628mg 5g 480ml 0,62ml 0,2g 20ml
Milieu B		
Na_Glutamate Azote organique (seld'acide aminé)	Na_Glutamate NAHCO ₃ Eau distillée Résazurine Solution réductrice Na ₂ S Eau distillée	1337,15mg 5g 480ml 0,62ml 0,2g 20ml
Milieu C		
KNO ₃ Azote minéral (sel de nitrate)	KNO ₃ NAHCO ₃ Eau distillée Résazurine Solution réductrice Na ₂ S Eau distillée	765,92mg 5g 480ml 0,62ml 0,2g 20ml
Milieu D		
Extrait de levure Azote organique	Extrait de levure NAHCO ₃ Eau distillée Résazurine Solution réductrice Na ₂ S Eau distillée	882,2mg 5g 480ml 0,62ml 0,2g 20ml
Milieu NAZ		
Absence de source d'azote	NAHCO ₃ Eau distillée Résazurine Solution réductrice Na ₂ S Eau distillée	5g 480ml 0,62ml 0,2g 20ml

La solution des 6 milieux de cultures obtenue est stérilisée à 120°C pendant 20 min à 1,2 bar. Elle est ensuite placée dans un bain-marie à 39°C, et maintenue sous un flux continu de CO₂ par barbotage. Dès l'arrivée du liquide ruminal, nous préparons la solution réductrice que l'on ajoute progressivement aux quatre milieux de cultures préalablement préparée -toujours sous flux de CO₂ -jusqu'à la réduction du milieu indiquée par le virage du couleur de l'indicateur de potentiel d'oxydoréduction (Résazurine) du bleu au rose avant de devenir incolore.

5.1.3 Préparation de l'inoculum

- La collecte du liquide ruminal

Le jus de rumen est prélevé directement du rumen du bovin après son abattage puis transféré dans des thermos préalablement lavés et aseptisés. Les échantillons ainsi prélevés sont traités au laboratoire dans les premières heures qui suivent la collecte.

- Filtration du liquide ruminal

Le liquide ruminal est filtré à travers de la mousse de nylon. Le filtrat est directement mélangé avec les 6 milieux de cultures séparément.

Dans nos 2 expériences, nous avons utilisé 450ml de la salive artificielle pour 50 ml du liquide ruminal. Le pH de la salive artificielle est mesuré directement avant et après l'ajout du liquide

ruminal filtré à l'aide d'un pH mètre.

5.1.4 Inoculation et incubation

0,2 g de matière sèche de chaque substrat sont broyés, pesés puis introduits dans les seringues en verre préalablement aseptisés.

Avant l'inoculation, les (6) flacons contenant des différents milieux de culture (salive artificielles) sont stérilisés dans un autoclave par une température de 120°C pendant 20 minutes à 1,2 bar, le contenu de ces six (6) flacons seront ensuite transférés dans (6) nouveau flacons (présence de condition d'anaérobiose par le CO₂), placée dans un bain marie réglée à 39°C. Dès l'arrivée du liquide ruminal, nous préparons la solution réductrice que l'on ajoute progressivement aux autres solutions -toujours sous flux de CO₂ -jusqu'à la réduction du milieu indiquée par le virage de couleur de l'indicateur du potentiel d'oxydoréduction (Résazurine) du bleu au rose avant de devenir incolore.

Après la mise en place d'une condition anaérobiose, 50ml du liquide ruminal (l'inoculum) est ajouté dans chaque flacons contenant chacun 450ml de la salive artificielle

(milieu de culture) présent dans le bain marie chauffé à 39°C (correspond à la température du rumen).

Un prélèvement du pH est nécessaire à cette étape (après le mélange du liquide ruminal et la salive artificielle) dans les (6) six milieux préparés.

Ensuite 20ml du mélange (liquide ruminal + salive artificielle) sont transférées dans chacune des seringues aseptisées et lubrifiées pour faciliter le placement du piston à l'intérieur du cylindre (90 seringues ont été utilisées dans cette expérience 60 seringues pour les milieux de culture avec source d'azote différentes et 30 seringues pour sans sources d'azote) partagé entre le blanc et les différents résidus (oranges, tomates, cardes, chrysanthèmes), ensuite le trou de chacune des seringues est bouché par un bouchon en plastique pour garder les conditions anaérobies pendant de nos résidus, après l'inoculation les seringues sont ensuite placées dans un étuve réglée à 39°C (température du rumen), à chaque quatre (4) heures une lecture est effectuée pour mesurer la quantité de gaz produit pendant la fermentation jusqu'à 120 heures.



Figure n°6 : photo des seringues contenant les milieux de cultures (salive artificielle).

6. Estimation du pourcentage de dégradabilité apparente de différents substrats après la fermentation

Le pesage du résidu après l'incubation permet d'estimer la dégradabilité de la matière sèche :

- Méthode

Après une période d'incubation de 120 h, nous filtrons le contenu du chaque flacon fermentatif dans un sachet sec, aseptique et préalablement taré, après séchage à 105°C pendant 24h, le résidu sec obtenu sert pour déterminer le pourcentage de dégradabilité apparente selon la formule suivante :

$$\% \text{ dégradabilité apparente} = \frac{P1 - P0}{Pd} \times 100$$

Où : P₀ : représente le poids du sachet vide (tare)

P₁ : représente le poids du sachet après séchage.

P_d : représente la prise d'essai initiale (0.2g)

7. Détermination des paramètres cinétiques de la production de gaz in vitro

Le suivi de la cinétique de fermentation est effectué par la mesure volumétrique de la production de gaz indiquée par le pied à coulisse, l'unité des gaz produit est de (ml/200mg de matière sèche). Les paramètres de la cinétique de production de gaz ont été estimés grâce au model logistique :

$$G(t) = \frac{b_1}{1 + \frac{t_{1/2}^{c_1}}{t^{c_1}}}$$

Dans laquelle :

Où : Gaz (t) : volume cumulé de gaz au temps t (ml/0.2g de MS).

b₁ : la production potentielle de gaz pour un temps d'incubation infini (ml/0.2g de MS).

c₁ : la constante de courbure (sans unités).

t_{1/2} : le temps (h) au bout duquel la demi- production (50 % de **b₁**) est obtenue.

t : temps d'incubation (h)

La dérivée de la fonction (1) donne les paramètres suivants : r_m et t_m

$$(C_1) \times t^{(c-1)}$$

$$rm = \frac{b \times (c-1)}{t_{1/2} + t_1^c}$$

$$t_{1/2} + t_1^c$$

Où : **rm** : la vitesse maximale de production de gaz (h-1), le temps (**tm**) au bout duquel cette vitesse maximale est calculé à partir de l'équation suivante :

$$tm = t_{1/2} \times (c-1)^{1/c}$$

Fonctionnement du model logistique

En superposant les données experimentales aux données fournies par le modèle logistique, il permet une meilleure exploitation de données. Le modèle permet d'observer les differents paramètres de production de gaz à savoir le b1, t1/2, rm, tm.

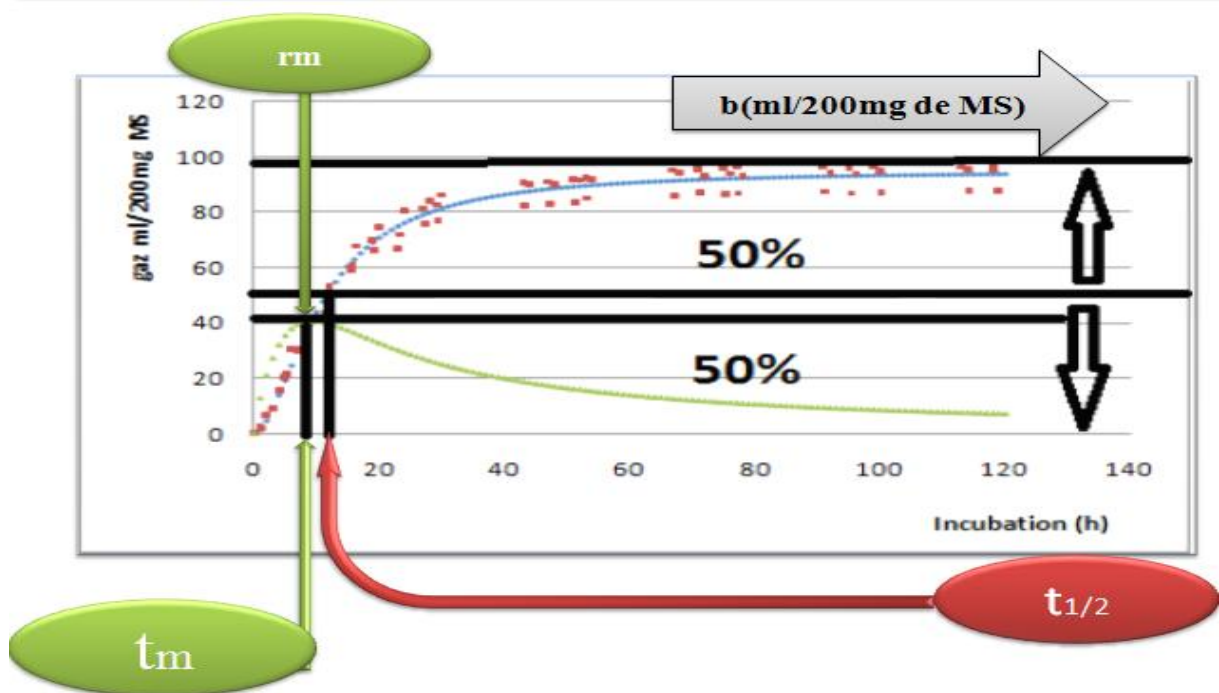


Figure n°7 : Superposition des données expérimentaux et aux données modélisées.

Chapitre 2 : Résultats et discussion

Chapitre 2: Résultats et discussion

1. Analyse des caractéristiques physico-chimiques de l'inoculum et de la salive artificielle

1.1 Valeurs du pH de l'inoculum avant la fermentation

Le pH du liquide ruminal tel quel avant la fermentation varie entre 5,65 à 5,90 qui est comparativement inférieur à celle rapporté par (Amokrane S, 2010), qui est de 6,25 à 7,25.

Tandis que les valeurs du pH de la salive artificielle, et son mélange avec le liquide ruminal, du premier essai au deuxième essai présente des valeurs qui sont comparativement presque identique avec les résultats trouvé par (Amokrane S, 2010) avec des valeurs respectives de 6,63 à 6,93.

Tableau n°4 : pH du liquide ruminal, de la salive artificielle et leur mélange avant la fermentation (Essai1)

	pH du liquide ruminal tel quel (LR)	pH de la salive artificielle (SA) après ajustement	pH du mélange (SA+LR filtré)	Moyenne et Ecart type± Du mélange
Milieu A	5,90	6,87	6,97 – 7,02	7±0,05
Milieu B	5,90	6,88	6,94 - 7	6,97±0,06
Milieu C	5,90	6,88	6,97 – 7,03	7±0,06
Milieu D	5,90	6,87	6,98 – 7,04	7,01±0,06

Tableau n°5 : pH du liquide ruminal, de la salive artificielle (Milieux sans azotes) et leur mélange avant la fermentation.

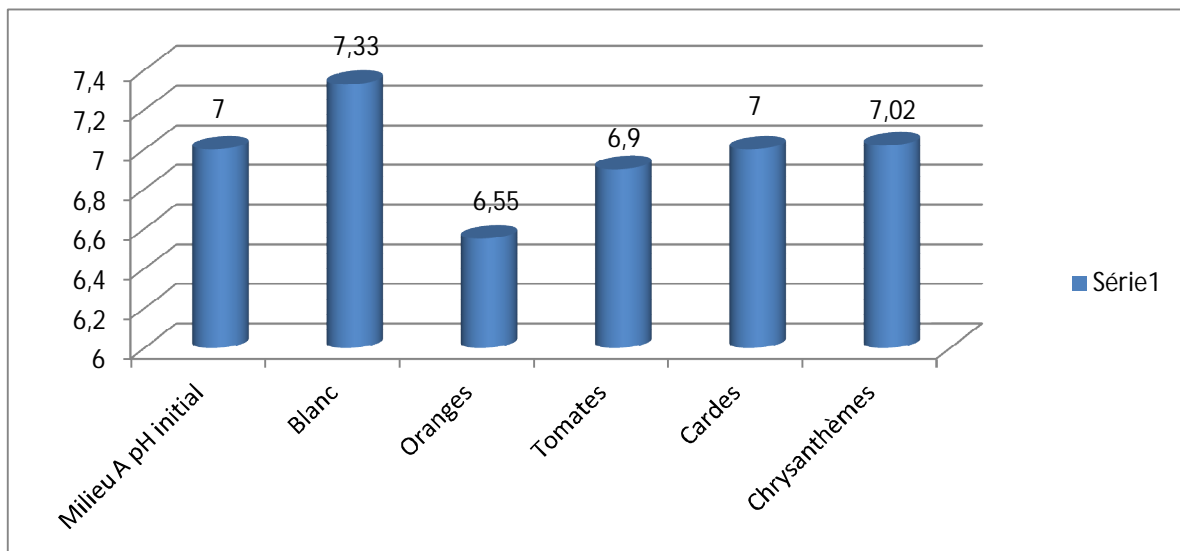
	Essai 2 (Milieu A)	Essai 2 (Milieu B)	Moyenne± Ecart type Du mélange
pH du liquide ruminal tel quel (LR)	5,65	5,65	5,65±0
pH de la salive artificielle (SA)	6,75 – 6,76	6,76 – 6,77	6,76±0,02
pH du mélange (SA+LR filtré)	6,78 – 6,80	6,71 – 6,73	6,76±0,14

1.2 Variation du pH de l'inoculum après la fermentation des différents substrats

a- Valeur des pH après la fermentation des milieux contenant différentes sources d'azotes

Tableau n°6 : Valeur du pH des différents milieux contenant différentes sources d'azotes après la fermentation.

	Moyenne et écart type± des différents pH				
	Blanc	Oranges	Tomates	Cardes	Chrysanthèmes
Milieu A	7,33	6,55	6,90	7	7,02
Milieu B	7,13	6,74	6,78	6,93	6,97
Milieu C	7,19	6,73	6,79	6,86	6,94
Milieu D	7,3	6,66	6,74	6,93	6,9



- **Figure n°8 :** Valeur du pH des différents substrats dans le milieu A après la fermentation.

Dans le milieu A le pH du substrat d'orange est plus bas par rapport aux autres substrats qui ont un pH alcalin de (6,9 à 7,33), le substrat orange à un pH de 6,55 donc pas de risque d'acidose avec des acides gras volatils, ces valeurs du pH sont comparativement similaires avec celle rapportés par (Amokrane S, 2011) avec un intervalle de 6,45 à 6,92.

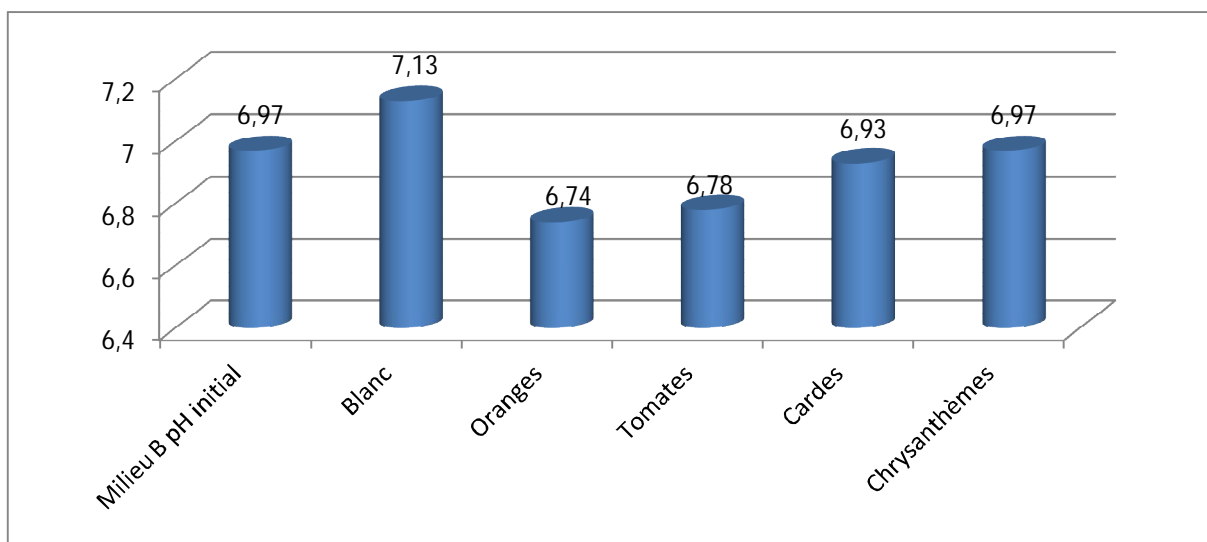
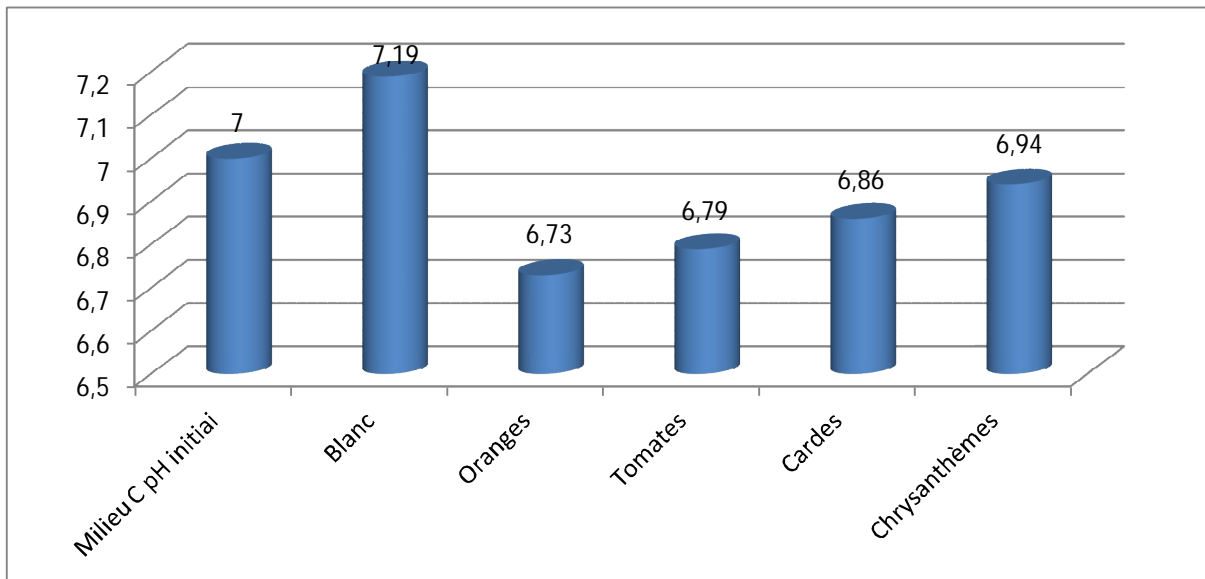


Figure n°9 : Valeur du pH des différents substrats dans le milieu B après la fermentation.

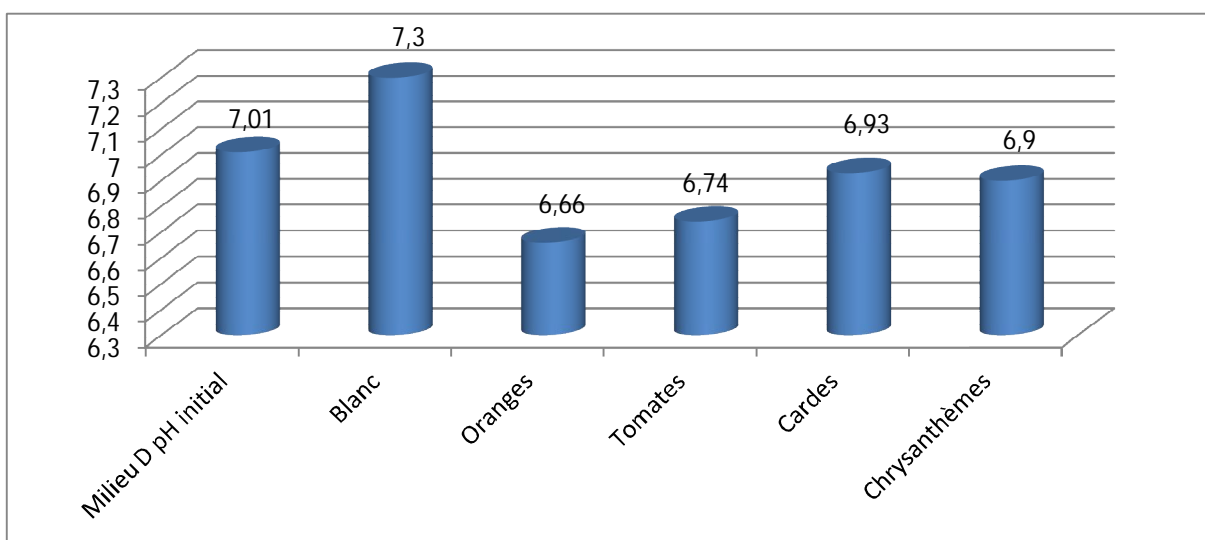
- Avec une source d'azote de bicarbonate d'ammonium dans le milieu B, les différents pH produits dans le milieu B avec les résidus comme oranges, tomates, cardes, chrysanthèmes sont tous proche de la neutralité, tandis le blanc dépasse un peu avec

une valeur de 7,13 ceci est aussi proche par celle trouvé par (Amokrane S, 2010) qui est compris entre 6,45 à 6,92.



- **Figure n°10** : Valeur du pH des différents substrats dans le milieu C après la fermentation.

Avec sa toxicité en provenance de sa source d'azote (Nitrate de potassium), le pH de différents substrats dans le milieu C, ne présente pas de grande variation après la fermentation de 120 h d'incubation qui se rapproche tous à la neutralité donc pas de production de grande quantité d'acides gras volatils, mes valeurs du pH son dans un intervalle compris entre (6,73 – 7,19) est assez similaires par les résultats trouvé par (Amokrane S, 2010) avec un intervalle de 6,45 à 6,92.



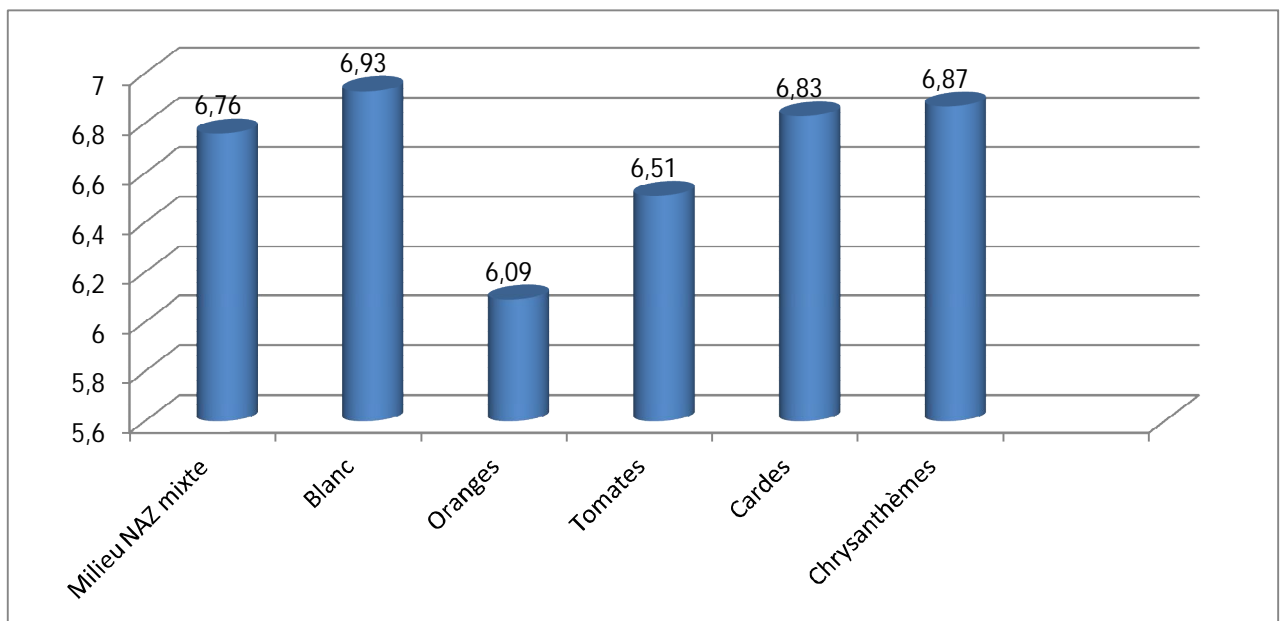
- **Figure n°11** : Valeur du pH des différents substrats dans le milieu D après la fermentation.

Comme dans les autres milieux de culture après la fermentation le pH de différents substrats dans le milieu D, n'est pas trop acide mais proche de la neutralité, ces différents pH trouvé avec différents substrats dans le milieu D possède des valeurs qui est comparativement similaire par celle trouvé par (Amokrane S, 2010) qui est compris entre 6,45 à 6,92.

- b- Valeur des pH après la fermentation du milieu NAZ (sans azote) contenant différentes sources d'azotes

Tableau n°7 : Valeur du pH des milieux NAZ (sans azotes) après la fermentation.

	Milieu NAZ (A)	Milieu NAZ (B)	Moyenne± Ecart type des milieux NAZ (A et B)
Blanc	6,98	6,88	6,93±0,1
Oranges	6,22	5,96	6,09±0,26
Tomates	6,63	6,39	6,51±0,24
Cardes	6,85	6,8	6,83±0,05
Chrysanthèmes	6,99	6,74	6,87±0,25



- **Figure n°12 :** Valeur du pH des différents substrats dans le milieu NAZ après la fermentation.

Au début de notre expérience le pH initial de notre milieu NAZ mixte (liquide ruminal+salive artificielle) était proche de la neutralité avec une valeur de 6,76. Après

l'incubation dans l'étuve pendant 120 heures(h) à 39°C, la variation du pH d'un substrat à l'autre est très considérable chez les résidus d'oranges et tomates avec des valeurs respectives 6,09 et 6,51. tandis que les plantes fibreuses (cardes et chrysanthèmes) et le blanc obtient un pH à la fin de la fermentation qui est proche de la neutralité avec des valeurs respectives 6,83 , 6,87 et 6,93 comme chez (Amokrane S, 2010) ces valeurs sont légèrement acide comprise entre 6,56 à 6,75.

1.3. Le potentiel d'oxydoréduction du mélange (liquide ruminal+salive artificielle)

D'après (Thivend *et al*, 1985), le potentiel d'oxydoréduction dans le rumen varie entre -250 à -400 mV (milieu fortement anaérobie), cette intervalle correspond à ce que nous, nous avons trouvé au cours de notre expérience -300 mV(millivolt).

Après l'ajout de la solution réductrice dont le rôle de Na₂S est de pièger le reste des oxygènes(O₂) présent dans les différents milieux, le changement de la couleur des milieux du bleu au rose avant de devenir incolore.

1.4 Analyse des caractéristiques microbiologiques de l'inoculum tel quel et leur mélange

Les mêmes constatations à été observées dans les milieux avec l'azote et sans azote, La réalisation de la coloration de Gram et l'observation microscopique ont permis d'analyser quantitativement la microflore ruminale chez le bovin et la première de ces résultats montre la dominance des bactéries Gram négatif par rapport aux bactéries Gram positif comme celle apportée par (Amokrane S, 2010).

Le nombre des bactéries rencontrées dans le liquide ruminal du bovin, sont présentes sous trois formes essentielles : cocci, bacille et vibrions avec un mode de regroupement et de pourcentage de présence différent selon le type du Gram.

L'effet de la filtration a permis aux bactéries Gram négatif d'occuper presque la totalité de la population bactérienne.

Malheureusement on n'a pas pu faire le comptage sur les pourcentages de la différente forme des bactéries à cause des images flou obtenues par nous avec la photo microscope.

2. La matière sèche, la matière minérale et la matière organique des différents substrats :

En utilisant au début un (1) gramme de résidus pour chaque substrat afin de quantifier le pourcentage sur (la matières sèches, matières minérales et matières organiques), cela nous a permis de comprendre l'écart qui existe entre les différents résidus après leur séchage et aussi leur incinération pour l'obtention de la matière minérale.

Après le séchage des différents résidus dans l'étuve à 105°C pendant 24 heures(h) la différence de poids qui existe entre ces résidus est considérable, le pourcentage en matières sèches le plus élevé se trouve chez les résidus de cardes (97%) mais cette valeur n'est pas trop éloigné a celle des tomates (96,75% de matières sèches) et 96% de matières sèches pour le chrysanthème mais ces valeur sont comparativement inferieur à celle trouvé par (Amokrane S, 2010) avec des valeurs respective de 88,77% pour la tomates, Oranges (89,04%), Chrysanthèmes (90,55%) et cardes (88,11). Parmi mes résultats la matière sèche des résidus d'oranges présente un pourcentage inferieur et éloigné par rapport aux pourcentages des autres résidus (cardes, chrysanthèmes, tomates).

Les résultats de nos expériences ont montré que les résidus d'oranges possède un pourcentage en matière organique important mais comparativement similaires à celle de chrysanthèmes avec des valeurs respectives 95,45% et 95,31. le pourcentage en matière organique chez les résidus tomates (84%) qui est plus faible par rapport aux trois (3) autres substrats utilisées, ces valeurs présente une différence et une similarité par rapport à celle trouvé par (Amokrane S, 2010) avec des valeurs respectives de 97,35% pour les oranges, chrysanthèmes (94,41%), cardes (86,98%) et celle de la tomates est de 98,33.

Le pourcentage en matière minérale des résidus d'oranges et de chrysanthèmes sont comparativement proche et inferieur aux deux (2) autres résidus cardes et tomates avec des pourcentages respective 10,29% et 16%. Ces résultats sont comparativement similaire à celui rapportés par (Amokrane S, 2010) avec des valeurs respective de cardes (13,02%), tomates (11,77%), chrysanthèmes (5,59%), oranges (2,65%).

Classement décroissant des différents résidus en fonction de leurs pourcentages en matières minérales :

Tomates (16%) > cardes (10,29%) > chrysanthèmes (4,69%) > oranges (4,55%)

Tableau n°8 : pourcentage des Matières sèche, matières organiques et minérales des différents substrats.

Substrats	T+MS	T+MM	Prise d'essai en g	%MS	%MM	%MO
Oranges	24,04	23,2	1	88,42	4,55	95,45
Tomates	29,11	28,3	1	96,75	16	84
Chrysanthèmes	12,51	11,6	1	96	4,69	95,31
Cardes	23,28	22,41	1	97	10,29	89,71

Légende :

% MS : pourcentages en matière sèche du substrat.

%MF : pourcentage en matière fraîche du substrat.

T+MS : représente le poids de la boîte de pétri après séchage (tare + résidus) (g).

T+MF : représente le poids de la boîte de pétri avant séchage (tare + quantité du résidu fraîche) (g).

T : représente le poids de la boîte de pétri vide (tare) (g).

T+MM : représente le poids du creuset après incinération (tare + matière minérale).

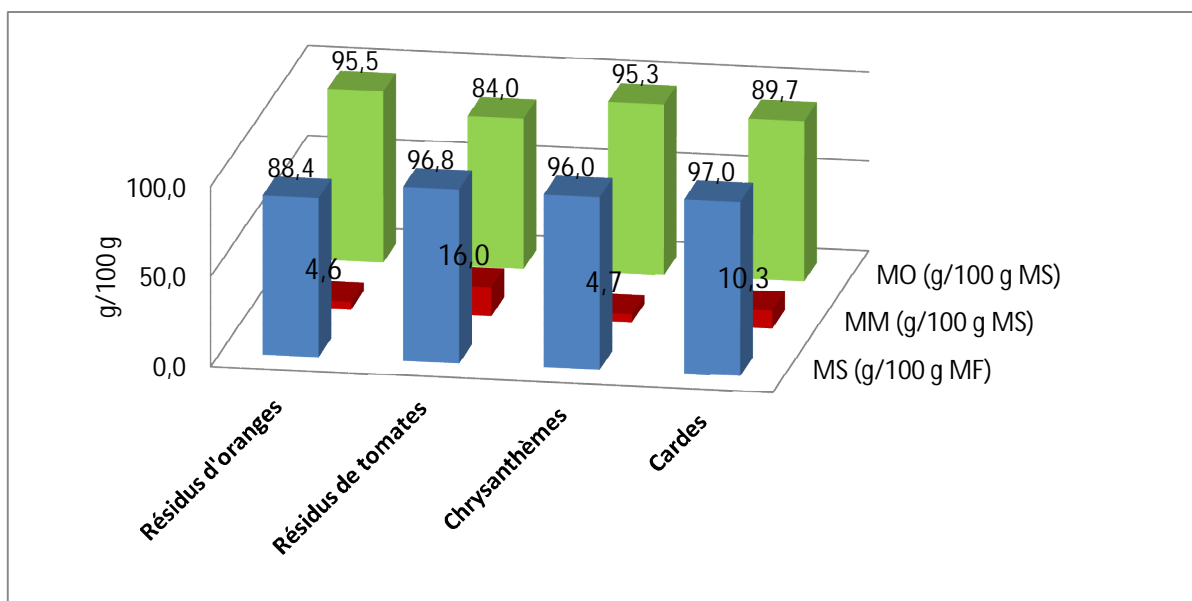


Figure n°13: Quantités des matières sèches, minérales et organiques de différents substrats après séchages, et l'incinération

3. La capacité tampon des substrats seuls et le mélanges (liquide ruminal+salive artificielle)

Les valeurs des pH initiaux de tous les substrats tels quels ou en mélanges, la quantité d'ammoniaque (0.1N) ajoutée pour augmenter leur pH, du pH initial à pH =7, la quantité d'acide acétique 0.1N ajoutée pour abaisser le pH de 7 à 4 ainsi que la capacité tampon sont notées dans le tableau suivant :

Tableau n°9: pH initiaux, quantités d'acide acétique (0.1N), quantités d'ammoniaque (0.1N) ajoutées (ml) et capacité tampon (en milliéquivalents d'acide acétique par gramme de MS) des différents substrats étudiés tels quels ou en mélanges.

Substrat seul ou Mélanges (SA+LR filtré)	pH initial (pHi)	ml d'ammoniaque 0.1N ajouté pour augmenter le pH de sa valeur initiale à pH =7	ml d'acide acétique 0.1N ajouté pour abaisser le pH du 7 à 4	Capacité tampon (meq/ g de MS)
Cardes	7, 9±0,01	*****	19±0,2	1,9
Chrysanthèmes	5,94±0,02	1,75±0,1	6,45±0,1	0,645
Tomates	4,15±0,1	24,45±0,1	23,9±0,8	2,39
Oranges	3,48±0,1	20,9±0,2	14,15±0,1	1,415
BMA	7,79	*****	76,5	7,65
BMB	8,35	*****	81,4	8,14
BMC	8,44	*****	80	8
BMD	8,51±0,54	*****	80,25	8,025

***** : Absent.

BMA : Mélange du milieu A (liquide ruminal filtré + milieu A)

BMB : Mélange du milieu B (liquide ruminal filtré + milieu B)

BMC : Mélange du milieu C (liquide ruminal filtré + milieu C)

BMD : Mélange du milieu D (liquide ruminal filtré + milieu D)

Mélange (SA+LR filtré) : mélanges salive artificielle + liquide ruminal filtré.

Le pH initial du substrat carde seul est alcalin 7,9, alors que les autres substrats seul présentent des pH initial qui est extrêmement acide comme (oranges, tomates, chrysanthèmes) avec des valeurs respectives 3,48 – 4,15 – 5,94.

La valeur de pHi enregistrée pour les résidus de cardes (7,9) reste inférieure à celle rapportée Par (Amokrane S, 2010) qui à enregistré : 8.17- 6.15- 4.09- 4.12 pour respectivement les résidus de cardes, chrysanthèmes, oranges, tomates.

Les différentes constatations trouvées entre mes résultats et celui de serine est due à la méthode appliquée dans la préparation de la solution des substrats à partir de laquelle le pHi est mesuré.

Le pH des mélanges de chacun des milieux (salive artificielle + liquide ruminal) sont tous alcalin avec des valeurs comprises entre 8,35 – 8,51 et des volumes d'acides acétiques importants sont utilisés pour faire les titrages de chacun de ces mélanges, qui est le contraire des substrats seul qui nécessite un petit volume pour le titrage.

Les quantités d'acides acétiques ajoutées pour abaisser le pH de 7 à 4 des différents mélanges (milieu de culture+salive artificielle) est très considérable, mais les trois milieux présentes approximativement les mêmes quantités d'acides acétiques ajoutés qui sont respectivement 80,25ml pour le milieu BMD, 81,4ml est enregistré pour le milieu BMB et celui du milieu BMC est de 80ml et en fin le milieu BMA à obtenu 76,5ml.

3.1 Quantité d'ammoniaque ajoutée pour augmenter le pH à 7

Lorsqu'une concentration de l'ammoniaque (0,1N) est ajoutée dans un bécher contenant la quantité d'un substrat (1 gramme de MS) suspendu dans 20 ml d'eau bidistillée qui est bien agité pendant 2 heures (pour avoir une suspension homogène), et ensuite faire varier son pH de pH initial à pH 7,0.

Le tableau 1 montre que la quantité d'ammoniaque (0.1N) la plus élevée (24,45ml) est ajoutée pour élever le pH des résidus de tomates de leur pH initial (4.15) à pH = 7, tandis qu'aucune quantité n'a été ajoutée pour les cardes (0.0 ml).

Les mélanges (liquide ruminal et la salive artificielle) n'ont pas besoin l'ajout de l'ammoniaque parce qu'il présente chacun un pH alcalin (7,79 pour le milieu BMA, 8,35 pour le milieu BMB, 8,45 pour le BMC et 8,51 pour le milieu BMD).

Il est à noter que plus la valeur du pHi est élevée, plus la quantité d'ammoniaque ajoutée pour élever le pH de sa valeur initial à pH 7 est faible, à l'exception des résidus de tomates qui, malgré leur pHi acide (4.12), exigent la quantité d'ammoniaque la plus élevée (la variation de pH chez les résidus de tomates est extrêmement faible), la quantité d'ammoniaque ajoutée dans mes résidus pour les augmenter à 7 est approximativement le double de ce que Amokrane S, 2010 a ajouté pour augmenter le pH de la tomates à 7 et aussi celle des oranges à 7, mais pour les résidus de cardes rien n'a été ajouté ni chez moi ni n'ont plus chez (Amokrane S, 2010) qui a enregistré des valeurs : Tomates (10,12ml), oranges (4,73ml), chrysanthèmes (0,4ml) et chez cardes (0,00ml).

3.3 Quantité d'acide acétique ajoutée pour abaisser le pH de 7 à 4

Lorsqu'une concentration d'acide acétique est ajoutée dans un bécher contenant la quantité d'un substrat (1 gramme de MS) suspendu dans 20 ml d'eau bidistillée qui est bien agité pendant 2 heures (pour avoir une suspension homogène), afin de porter son pH de 7,0 à 4,0. Ceci dans le but d'estimer la capacité tampon du substrat.

La première des remarques est que les volumes d'acide acétique (0,1N) ajoutés dans différents substrats seuls et le mélange (liquide ruminal+salive artificielle), présente une grande différence qui nécessite une véritable étude sur ces différents volumes.

Les quantités d'acide acétique ajoutées pour abaisser le pH des différents substrats seuls de 7 à 4 commencent de 6,45ml (résidus de chrysanthèmes) jusqu'à un volume de 23,9 ml (résidus de tomates), en comparant ces valeurs à celle de (Amokrane S, 2010) à part chez les résidus d'oranges la quantité d'acide acétique ajoutée pour abaisser le pH de 7 à 4 des autres résidus est supérieure par rapport à la mienne, serine a enregistré des quantités (ml) d'acide acétique comme : Cardes (45.75), résidus de tomates (37.75), résidus d'oranges (14.70).

Tandis que les quantités d'acides acétiques ajoutées pour abaisser le pH des mélanges vont de 76,5ml pour le mélange BMA à 81,4 ml pour le mélange BMB.

Les volumes d'acide acétique (0,1N) ajoutés pour abaisser le pH des mélanges (liquide ruminal+salive artificielle) de 7 à 4 est très élevée dont les quantités d'acide acétique ajoutées commencent de 80 à 81,4ml.

4. La teneur en sucres totaux de différents solutions étalons et substrats

Le contenu en sucres totaux des résidus d'oranges, tomates cardes et chrysanthèmes est obtenu à l'aide de l'équation de la droite d'étalonnage ($y=0,004x + 0,018$) dans laquelle y représente la DO et x la concentration en sucres totaux. La densité optique est directement proportionnelle à la quantité de sucres présents dans les solutions étalons.

DO (488nm)

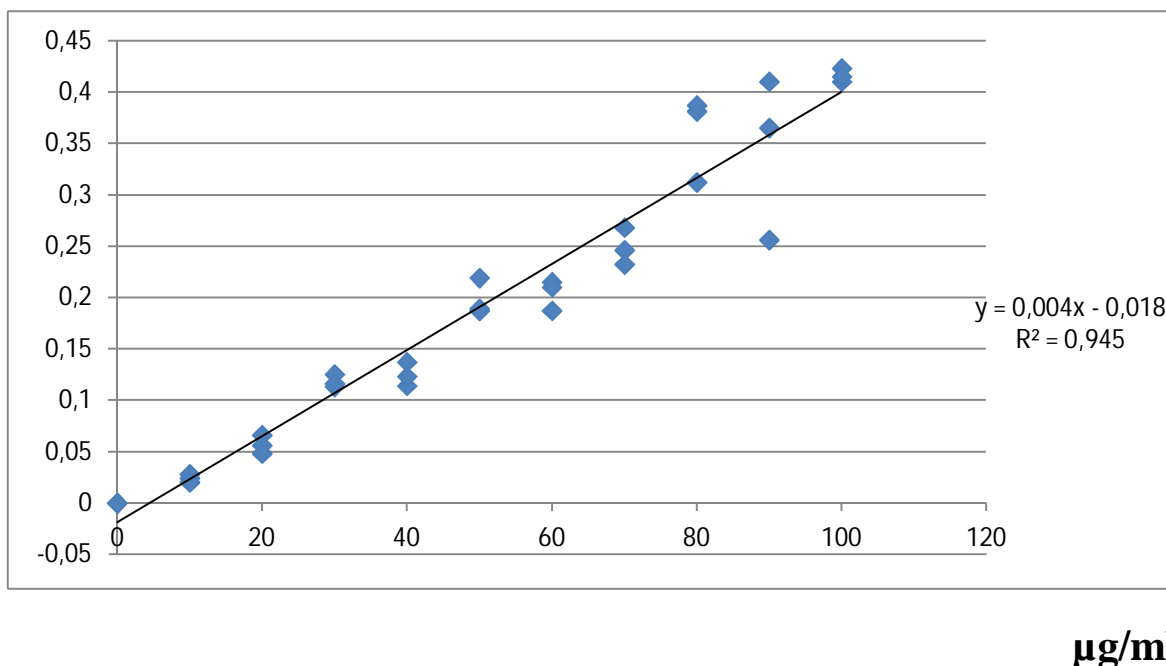


Figure n°14 : Droite d'étalonnage : en ordonnées la densité optique (DO) en unité d'absorbance et en abscisse la concentration en glucose (µg/ml).

Tableau n°10 : représentation de la concentration des sucres totaux des matières fraîches, sèches et organiques.

Substrat	Nombre Répétition	Sucres totaux (valeur moyenne)		
		[mg/g MF]	[mg/g MS]	[mg/g MO]
r-oranges	3	227,0	263,1	273,4
r-tomates	3	116,0	119,6	131,9
Chrysanthèmes	3	232,6	242,3	254,2
Cardes	3	167,9	173,0	192,9

Ce tableau montre que les résidus d'oranges sont en tête avec un taux de sucre plus élevé par rapport aux autres substrats que ça soit en matière fraîche, sèche et organique tandis que le substrat tomates se classe en deuxième position et possède des concentrations en sucre totaux supérieures à celles des deux (2) plantes fibreuses utilisées, parmi ces 2 plantes fibreuses les résidus de chrysanthèmes contiennent plus de sucre par rapport à celui du cardé.

5. La fermentescibilité *in vitro* de différents substrats

5.1 Les paramètres cinétiques de la production de gaz *in vitro*

La mesure du volume de gaz dégagé à temps d'incubation nous a permis de calculer les paramètres de la cinétique de la production de gaz avec le modèle logistique présentés dans ce tableau n°11

5.1.1 Analyse des paramètres de la cinétique de production de gaz par milieu

5.1.1.1 Milieu A (Source d'azote de bicarbonate d'ammonium)

Tableau n°11 : Paramètres de la production *in vitro* des résidus agroalimentaires et les plantes fibreuses dans le milieu A.

Substrat	Paramètres de la cinétique de production de gaz				
	b (ml/200mg)	c	$t_{1/2}$ (h)	rm (h^{-1})	tm (h)
Cardes	56,43 ^c	2,28 ^a	26,21 ^b	0,044 ^b	29,2 ^a
Chrysanthèmes	62,15 ^c	1,6 ^b	38,5 ^a	0,022 ^c	26,57 ^a
Oranges	95,25 ^a	1,76 ^b	10,94 ^c	0,082 ^a	9,33 ^b
Tomates	79,41 ^b	1,87 ^b	11,63 ^c	0,081 ^a	10,76 ^b

Le niveau de production de gaz de différents substrats dans le milieu A est considérable :

Les résidus d'oranges produisent un maximum de gaz ($b_1=95,25$ ml/200mg de matière sèche), nettement supérieur par rapport aux trois (3) autres substrats (tomates, cardé, chrysanthèmes), et les résidus de tomates sont classés en deuxième position (les tomates produisent plus de gaz par rapport aux plantes fibreuses (cardes et chrysanthèmes).

Classification des substrats dans le milieu A en fonction de leur capacité de fermentescibilité :

La première position est occupée par les résidus d'oranges avec une capacité de production ($b_1=95,25$ ml/200mg de matière sèche avec un $t_{1/2}=10,94$ heures (h).

Deuxième position est occupé par les résidus de tomates avec un ($b_1=79,41\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=11,63\text{h}$).

La troisième position est prise par les 2 plantes fibreuses (cardes et chrysanthèmes), avec des valeurs ($b_{1(\text{carde})}=56,43\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=26,21$ heures (h) qui est comparativement similaire à celles des chrysanthèmes d'après le classement du model logistique avec un ($b_1=62,15\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}= 38,5$ heures (h)).

Les substrats qui produisent plus de gaz sont suffisamment riche en sucres totaux

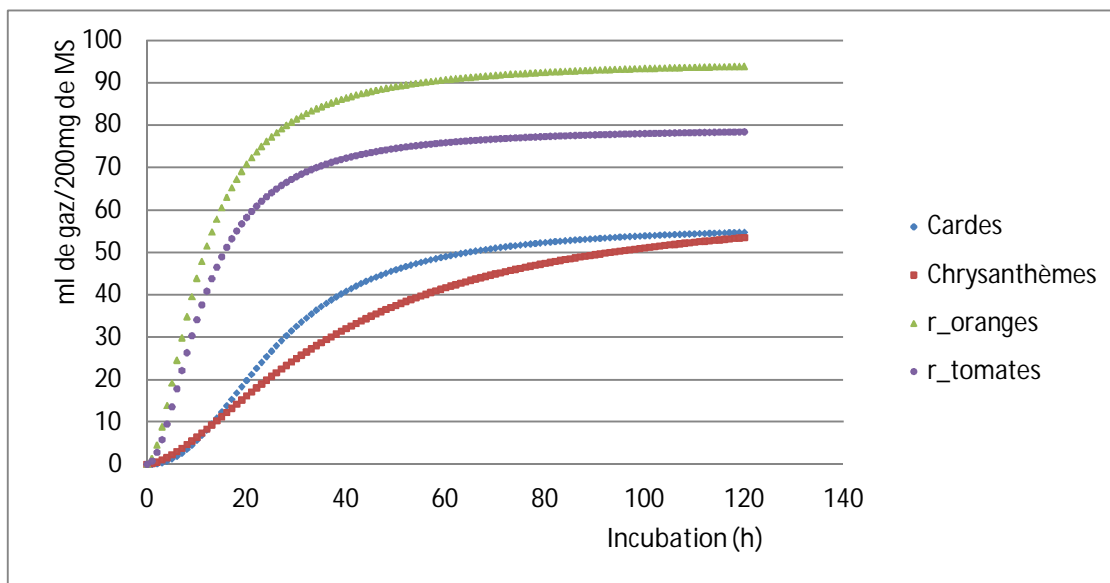


Figure n°15: Courbes des cinétiques de production de gaz par les différents substrats présent dans le milieu A (dont la source d'azote est le bicarbonate d'ammonium)

5.1.1.2 Milieu B (Glutamate de sodium)

Tableau n°12 : Paramètres de la production *in vitro* des résidus agroalimentaires et les plantes fibreuses dans le milieu B

Substrat	b (ml/200mg)	c	$t_{1/2}$ (h)	rm (h^{-1})	tm (h)
Cardes	69,69 ^b	2,19 ^a	22,45 ^a	0,050 ^b	23,77 ^a
Chrysanthèmes	63 ^b	1,86 ^a	21,24 ^a	0,044 ^b	19,38 ^b
r_oranges	114,33 ^a	1,76 ^a	10,61 ^b	0,084 ^a	8,97 ^c
r_tomates	106,38 ^a	1,89 ^a	9,44 ^b	0,100 ^a	8,86 ^c

Toujours avec les mêmes flores ruminales, les résidus d'oranges et de tomates sont toujours en têtes avec une production de gaz supérieur par rapport aux plantes fibreuses

($b_{1(\text{oranges})}=114,33\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et $b_{1(\text{tomates})}=106,38\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche) les substrats d'oranges et de tomates sont à peu près aux mêmes niveaux de productivités de gaz. Les 2 plantes fibreuses sont en dernière position avec des valeurs b_1 classées au même niveau de fermentescibilité, les 2 plantes fibreuses sont comparativement proches en matière de quantités de production de gaz et leurs temps de demi production de gaz sont pratiquement proches (identiques) du point de vue des classements par le modèle logistique.

Classification des substrats dans le milieu B en fonction de leur capacité de fermentescibilité :

La première position est occupée par les résidus d'oranges et de tomates avec des valeurs ($b_{1(\text{oranges})}=114,33\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=0,084$ heures (h)) mais sensiblement similaires à celle des tomates du point de vue comparative par le modèle logistique avec des valeurs ($b_{1(\text{tomates})}=106,38\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=0,1$ heures (h)).

Deuxième position est prise par les plantes fibreuses, ces 2 résidus (cardes et chrysanthèmes) sont situés au même niveau de fermentescibilité avec des valeurs ($b_{1(\text{cardes})}=69,69\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=0,050$ heures (h)), les données de cardes sont comparativement proches à celui du chrysanthèmes d'après le modèle logistique qu'on a utilisées, le chrysanthèmes a une valeur b_1 qui est égale à $63\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=0,044$ heures (h).

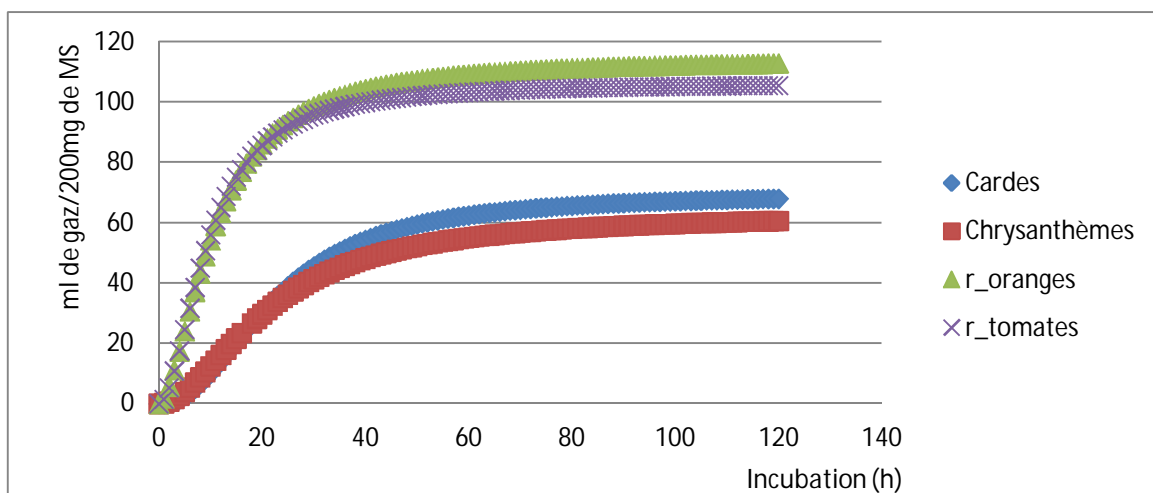


Figure n°16: Courbes des cinétiques de production de gaz par les différents substrats présent dans le milieu B (dont la source d'azote est le Glutamate de sodium).

5.1.1.3 Milieu C (Nitrate de potassium)

Tableau n°13: Paramètres de la production *in vitro* des résidus agroalimentaires et les plantes fibreuses dans le milieu C.

Substrat	b (ml/200mg)	c	$t_{1/2}$ (h)	rm (h^{-1})	tm (h)
Cardes	27,17 ^c	2,41 ^a	20,082 ^a	0,062 ^a	22,62 ^a
Chrysanthèmes	21,62 ^c	2,11 ^a	15,11 ^b	0,070 ^a	15,68 ^b
r_oranges	85,92 ^a	1,2 ^b	13,84 ^b	0,057 ^a	3,38 ^c
r_tomates	67,64 ^b	1,3 ^b	12,19 ^b	0,063 ^a	4,8 ^c

Avec les mêmes flores ruminales et aussi les mêmes sources d'azote, les résidus d'oranges sont toujours en tête avec un taux de production de gaz plus élevé par rapport aux autres substrats (tomates, cardes, chrysanthèmes) la production du gaz dans le milieu C est nettement inférieure par rapport aux autres milieux (le nitrate de potassium présente une certaine toxicité pour la flore ruminale) raison pour laquelle on a eu moins de production de gaz dans le milieu C.

Classification des substrats dans le milieu C en fonction de leur capacité de fermentescibilité :

La Première position est occupée par les résidus d'oranges avec une capacité de production ($b_1=85,92\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche avec un $t_{1/2}=13,84$ heures (h)).

Deuxième position est occupé par les résidus de tomates avec un ($b_1=67,64\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=12,19$ heures (h)).

La troisième position est occupées par les 2 plantes fibreuses (cardes et chrysanthèmes), avec des valeurs ($b_{1(\text{cardes})}=27,17\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=20,082$ heures (h)) qui est comparativement proche d'après le classement du modèle logistique à celui du chrysanthème ($b_1=21,62\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=15,11$ heures (h)).

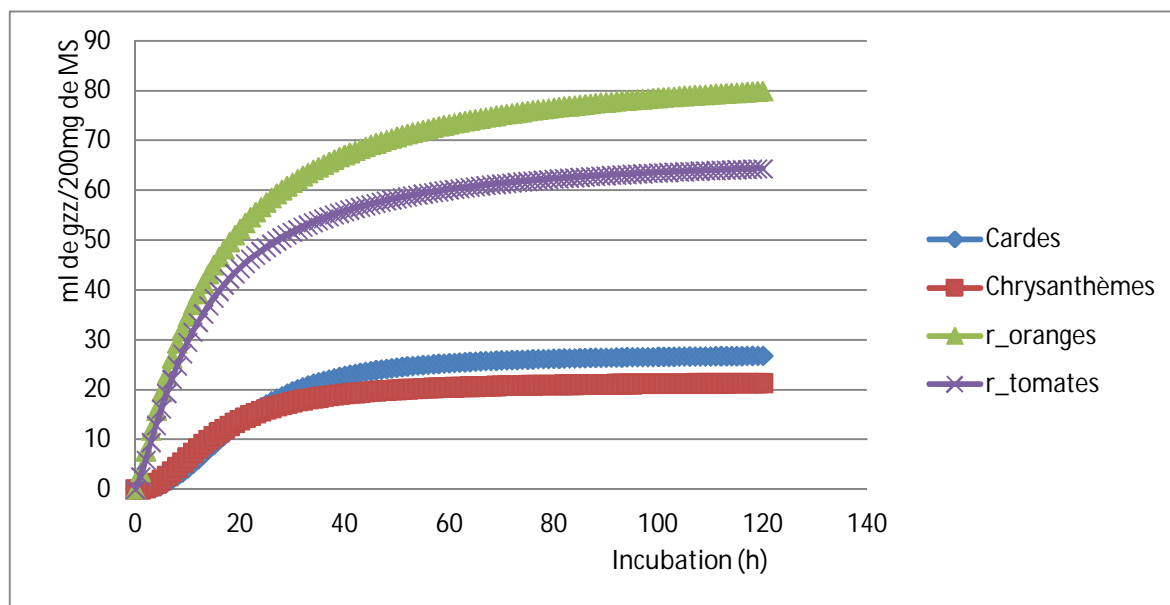


Figure n°17: Courbes des cinétiques de production de gaz par les différents substrats présents dans le milieu C (dont la source d'azote est le Nitrate de potassium).

5.1.1.4 Milieu D (Extrait de levure)

Tableau n°14 : Paramètres de la production *in vitro* des résidus agroalimentaires et les plantes fibreuses dans le milieu D.

Substrat	b (ml/200mg)	c	$t_{1/2}$ (h)	rm (h^{-1})	tm (h)
Cardes	59,4 ^d	2,35 ^a	20,48 ^b	0,058 ^c	23,03 ^a
Chrysanthèmes	76,08 ^c	1,29 ^c	28,89 ^a	0,027 ^d	10,93 ^b
r_oranges	102,92 ^a	1,59 ^b	8,68 ^c	0,095 ^a	6,21 ^c
r_tomates	90,07 ^b	1,7 ^b	10,24 ^c	0,084 ^b	8,29 ^{bc}

Toujours avec les mêmes flores ruminale, mais avec une source d'azote différentes, les résidus d'oranges sont en têtes avec un maximum de production de gaz plus élevé par rapport aux autres substrats utilisées (tomates, cardes, chrysanthèmes).

Classification des substrats en fonction de leur capacité de fermentiscibilité :

La première position est occupé par les résidus d'orange avec des valeurs ($b_{1(\text{oranges})}=102,92\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=8,68$ heures(h)).

La deuxième position est occupé par les résidus de tomates avec des ($b_{1(\text{tomates})}=90,07\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=10,24$ heures(h)).

Les résidus de chrysanthèmes sont en troisième position avec un ($b_{1(\text{chrysanthèmes})}=76,08\text{ml}/200\text{mg}$ de matières sèches et un $t_{1/2(\text{lent})}=28,89$ heures(h)).

La quatrième position est prise par les résidus de cardes avec un ($b_{1(\text{cardes})}=59,4\text{ml}/200\text{mg}$ de matières sèches et un $t_{1/2(\text{lent})}=20,48$ heures(h)).

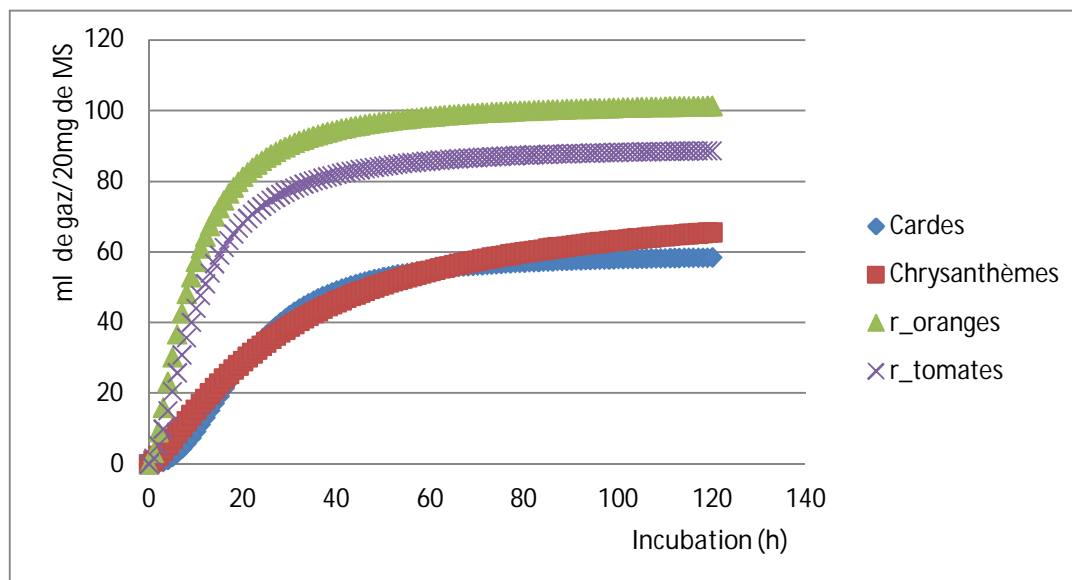


Figure n°18: Courbes des cinétiques de production de gaz par les différents substrats présents dans le milieu D (dont la source d'azote est l'extrait de levure).

5.1.1.5 Milieu NAZ (Absence de source d'azote)

Tableau n°15 : Paramètres de la production *in vitro* des résidus agroalimentaires et les plantes fibreuses dans le milieu NAZ.

Substrat	Paramètres de la cinétique de production de gaz				
	b (ml/200mg)	c	$t_{1/2}$ (h)	rm (h^{-1})	tm (h)
Cardes	42,58 ^b	2,28 ^a	20,17 ^a	0,057 ^b	22,26 ^a
Chrysanthèmes	35,94 ^b	1,61 ^b	15,55 ^b	0,054 ^b	11,39 ^b
r_oranges	88,64 ^a	1,63 ^b	10,22 ^d	0,083 ^a	7,57 ^c
r_tomates	89,55 ^a	1,53 ^b	12,74 ^c	0,063 ^b	8,42 ^c

Toujours avec les flores ruminales prélevés chez le même genre de bovin, l'absence de source d'azote utilisé dans différents milieux au cours de notre expérience ne présente pas une grande différence en matières quantités de production de gaz , dans le milieu Naz la production de gaz est plus intense par rapport a certain milieu comme le milieu C dont la

source d'azote présente une certaine toxicité pour les bactéries (dans notre expérience les substrats utilisés peuvent contenir une certaine quantité d'azote)

Les substrats riches en sucres totaux comme le résidus d'orange et de tomate sont toujours en têtes avec un maximum de production de gaz plus élevé par rapport aux autres substrat (les plantes fibreuses sont moins riche en sucres totaux), dans le milieu C ces 2 plantes cardes et chrysanthèmes sont comparativement similaires en matière de quantité de production de gaz d'après les résultats de l'analyse par le model logistique.

Classification des résidus en fonction de leur capacité de fermentiscibilité dans le milieu NAZ d'après le model logistique :

La première position est occupé par les substrats riches sucres totaux (résidus d'oranges avec un $b_{1(\text{oranges})}=88,64\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2(\text{cort})}=10,22$ heures(h) et les résidus de tomates sont aussi classées en première position avec des valeurs $b_{1(\text{tomates})}=89,55\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2(\text{peu court})}=12,74$ heures(h), d'après le model logistique ces 2 résidus sont comparativement proche en niveau de productivité de gaz.

La deuxième position est occupé par les plantes fibreuses (cardes et chrysanthèmes) dont les 2 sont comparativement similaires d'après le model logistique ($b_{1(\text{cardes})}=42,58\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2(\text{très lent})}=20,17$ heures(h) et celui de chrysanthèmes est $b_{1(\text{chrysanthèmes})}=35,94\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et son $t_{1/2(\text{lent})}=15,55$ heures(h).

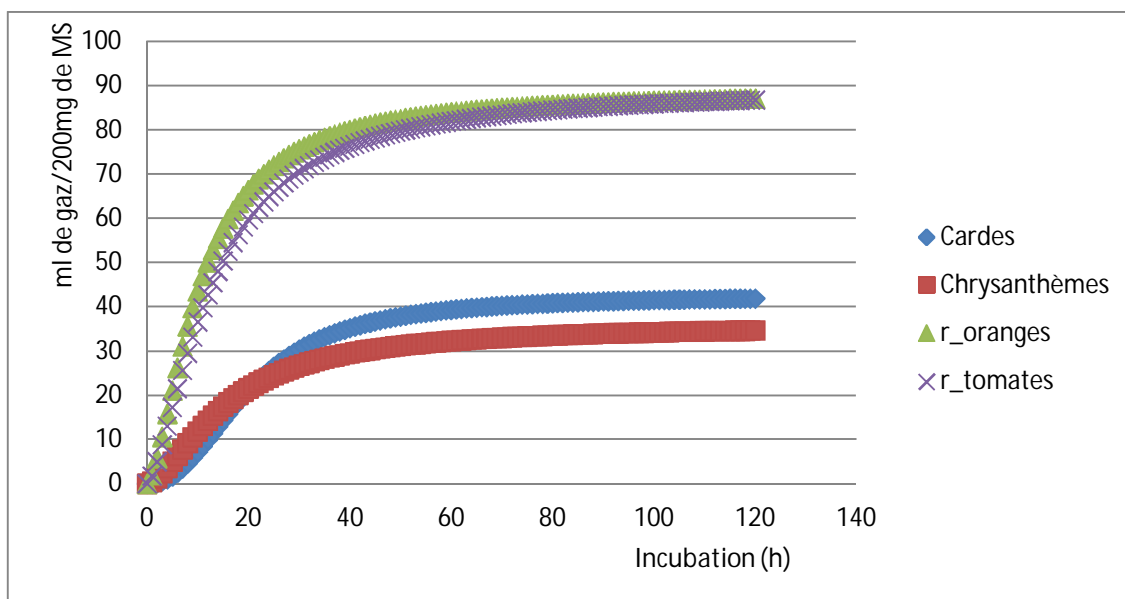


Figure n°19 : Courbes des cinétiques de production de gaz par les différents substrats présents dans le milieu NAZ (Absence d'une source d'azote).

5.1.2 Analyse des paramètres de la cinétique de production de gaz par substrat

5.1.2.1 Substrat carde

Tableau n°16 : Paramètres de la production *in vitro* du résidu de carde présents dans différente source d'azote.

Milieu	Paramètres de la cinétique de production de gaz				
	b (ml/200mg)	c	$t_{1/2}$ (h)	Rm (h^{-1})	tm (h)
A	56,4 ^b	2,28	26,2 ^a	0,044	29,2 ^a
B	69,69 ^a	2,19	22,44 ^b	0,049	23,77 ^b
C	27,17 ^d	2,41	20,08 ^b	0,062	22,62 ^b
D	59,4 ^b	2,35	20,48 ^b	0,058	23,03 ^b
NAZ	42,58 ^c	2,28	20,17 ^b	0,057	22,26 ^b

En comparant les données par le model logistique, la fermentiscibilité des résidus de cardes dans le milieu B est plus élevé par rapport aux autres milieux de cultures (salive artificielles), c'est des plantes fibreuses qui produisent moins de gaz avec de longue durée.

Classement de façon décroissant des différents milieux de culture qui favorise la fermentiscibilité des résidus de cardes :

La première position est occupé par le milieu B avec une source d'azote de glutamate de sodium, avec des ($b_1=69,69^a/200$ mg de matière sèche et un $t_{1/2(lent)}=22,44$ heures(h)).

D'après les résultats de l'analyse par le model logistique la deuxième position est prise par le milieu A et D avec des sources d'azote différentes comme le bicarbonate d'ammonium pour le milieu A et celle du milieu D est l'extrait de levure, dont les deux (2) sont comparativement proche au niveau de productivité de gaz avec des valeurs ($b_{(Milieu A)}=56,4$ ml/200mg de matière sèche et un $t_{1/2(très lent)}=26,2$ heures(h)) et celui du milieu D est ($b_{(Milieu D)}=59,4$ ml/200mg de matière sèche et un $t_{1/2(lent)}=20,48$ heures(h)).

La troisième position est prise par le milieu NAZ avec un maximum de production de gaz $b_{(milieu NAZ)}=42,58/200$ mg de matières sèche et un $t_{1/2(lent)}=20,17$ h.

Le milieu C se trouve en quatrième place sur le plan de production de gaz avec une valeur de $b_{(milieu c)}=27,17$ ml/200mg de matière sèche et un $t_{1/2(lent)}=20,08$ h.

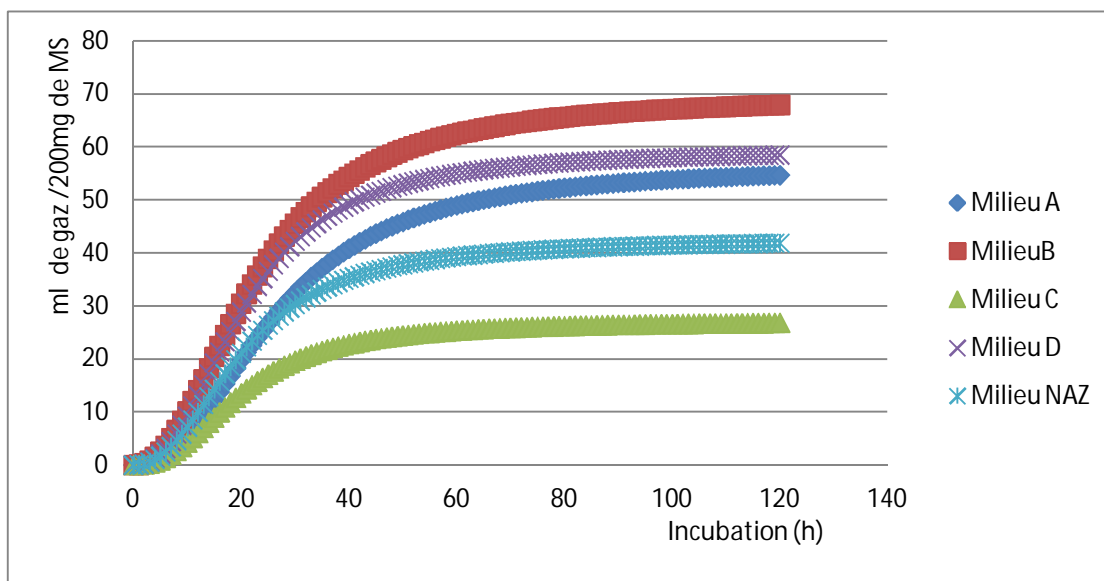


Figure N°20: cinétiques de la production de gaz du résidu de carde présent dans les cinq milieux de culture différents.

5 .1.2.2 Substrat chrysanthèmes

Tableau n°17 : Paramètres de la production *in vitro* du résidu de chrysanthèmes présents dans différente source d'azote.

Paramètres de la cinétique de production de gaz					
Milieu	b (ml/200mg)	c	$t_{1/2}$ (h)	Rm (h^{-1})	tm (h)
A	62,15 ^b	1,6 ^b	38,51 ^a	0,022 ^c	26,57 ^a
B	63 ^b	1,86 ^b	21,24 ^c	0,044 ^b	19,38 ^b
C	21,62 ^d	2,11 ^a	15,11 ^c	0,070 ^a	15,68 ^c
D	76,08 ^a	1,29 ^c	28,89 ^b	0,027 ^c	10,93 ^d
NAZ	35,94 ^c	1,61 ^b	15,55 ^c	0,054 ^b	11,39 ^d

Avec la présence d'une source d'azote d'extrait de levure dans le milieu D, les substrats chrysanthèmes produit plus de gaz dans le milieu D par rapport aux autres milieux avec une production minimales de gaz de 21,62 ml/200mg de matière sèche dans le milieu C et une maximale de 76,08 ml/200mg de matière sèche dans le milieu D.

Classement des différents milieux de culture en fonction de leur performance dans la fermentiscibilité des résidus de chrysanthèmes :

Première position :

Milieu D ($b_1=76,08\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2(\text{lent})}=28,89\text{h}$.

Deuxième position :

Milieu A ($b_1=62,15\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2(\text{très lent})}=38,51\text{h}$, et qui présente une valeur b_1 comparativement proche à celui du milieu B, mais avec un temp de demi production de gaz assez éloigné à celui du Milieu B ($b_1=63\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2(\text{lent})}=21,24\text{h}$.

Troisième position :

Milieu NAZ ($b_1=35,94\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2(\text{court})}=15,55\text{h}$.

Quatrième position :

Milieu C ($b_1=21,62\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2(\text{court})}=15,11\text{h}$.

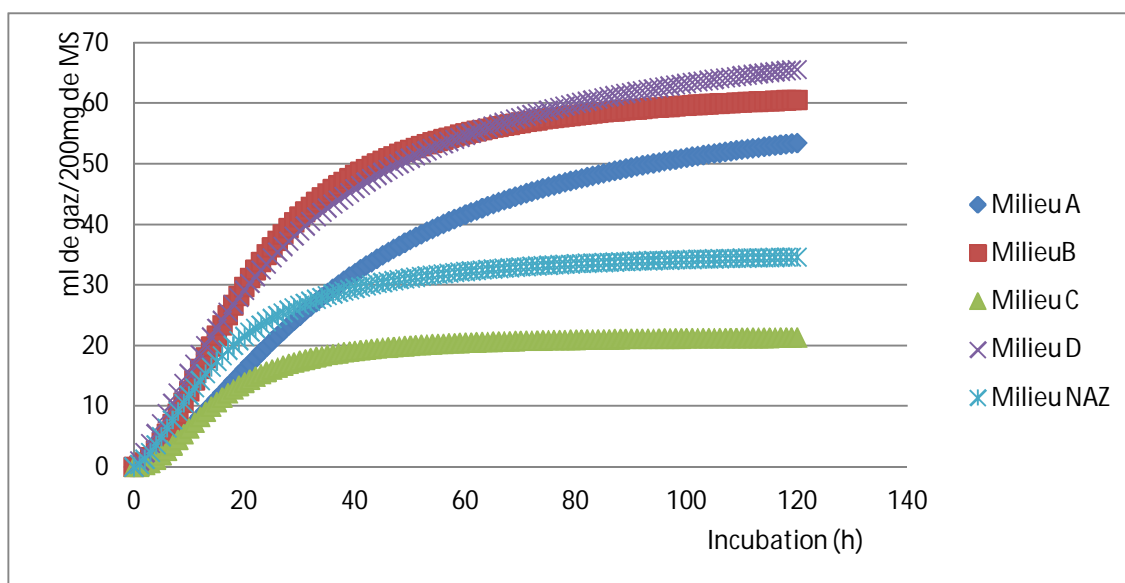


Figure N°21: cinétiques de la production de gaz du residu de chrysanthèmes présents dans Les cinq milieux de culture différents.

5 .1.2.3 Substrat tomates

Tableau n°18 : Paramètres de la production *in vitro* du résidu de tomates présents dans différente source d'azote.

Paramètres de la cinétique de production de gaz					
Milieu	b(ml/200mg)	c	$t_{1/2}$ (h)	Rm (h^{-1})	tm (h)
A	79,41 ^{bc}	1,87 ^a	11,63 ^{ab}	0,081 ^b	10,76 ^a
B	106,38 ^a	1,89 ^a	9,44 ^b	0,1 ^a	8,86 ^a
C	67,64 ^c	1,3 ^c	12,19 ^a	0,063 ^c	4,8 ^b
D	90,07 ^b	1,7 ^{ab}	10,24 ^{ab}	0,084 ^b	8,29 ^a
NAZ	89,55 ^b	1,53 ^b	12,74 ^a	0,063 ^c	8,42 ^a

Parmi les quatre milieux de culture testés le substrat tomate produisent plus de gaz dans le milieu B avec un $b_1=106,38\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un minimum de production de gaz dans le milieu C ($b_1=67,64\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche).

Classement des différents milieux de culture en fonction de leur performance dans la fermentiscibilité des résidus de tomates :

La Première position est prise par :

Milieu B ($b_1=106,38\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=9,44\text{h}$).

La Deuxième position est occupé par le milieu NAZ, et D, d'après le classement par le model logistique ils sont comparativement proche a celui du milieu A avec des valeurs :

Milieu NAZ ($b_1=89,55\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=12,74^a$ heures(h))

Milieu D ($b_1=90,07\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=10,24^{ab}$ heures(h))

Milieu A ($b_1=79,41\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=11,63^{ab}$ heures(h))

Troisième position

Milieu C ($b_1=67,64\text{ml}/200\text{mg}$ de matière sèche et un $t_{1/2}=12,19\text{h}$).

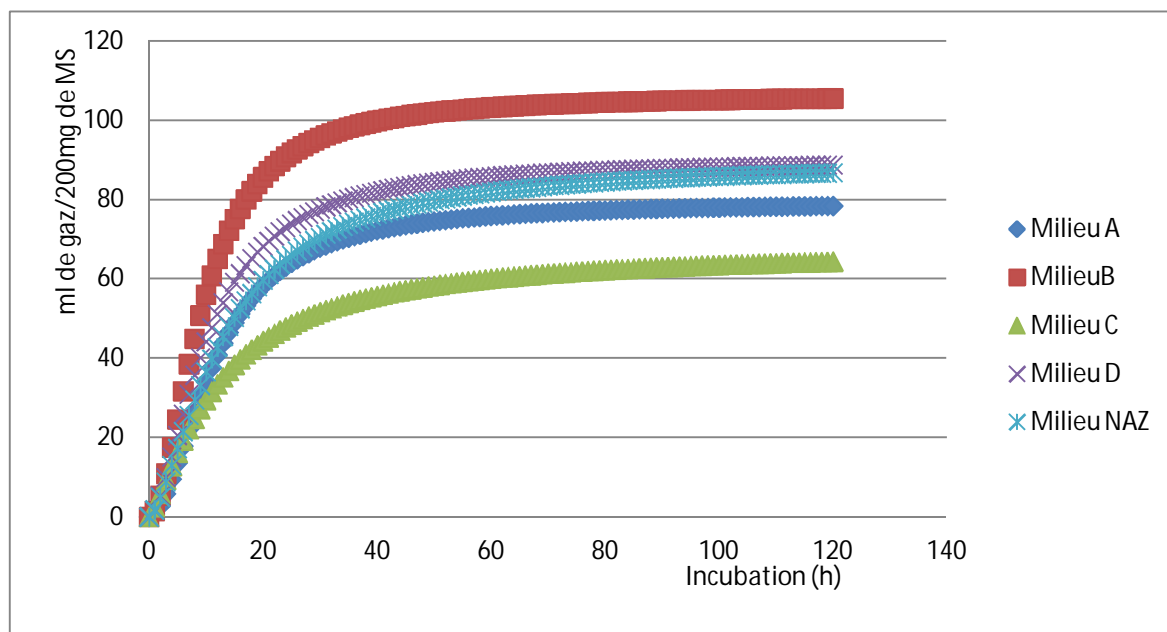


Figure N°22: cinétiques de la production de gaz du résidu de tomate présents dans les cinq milieux différents

5.1.2.4 Substrat orange

Tableau n°19 : Paramètres de la production *in vitro* du résidu d'orange présents dans différente source d'azote :

Milieu	Paramètres de la cinétique de production de gaz				
	b (ml/200mg)	c	$t_{1/2}$ (h)	Rm (h^{-1})	tm (h)
A	95,25 ^{bc}	1,76	10,94 ^b	0,0816	9,33 ^a
B	114,33 ^a	1,76	10,61 ^b	0,0844	8,97 ^a
C	85,92 ^c	1,2	13,84 ^a	0,0574	3,38 ^c
D	102,92 ^{ab}	1,59	8,68 ^b	0,0952	6,21 ^b
NAZ	88,64 ^{bc}	1,63	10,22 ^b	0,0834	7,57 ^{ab}

D'après les différents analyse sur le substrat orange, sa composition nous a permis de comprendre que les résidus d'orange est riche en sucres totaux et qui est responsable de sa productivité de gaz plus élevé par rapport aux autres substrats utilisées :

le substrat oranges produisent plus de gaz dans le milieu B avec un maximum $b_1=114,33$ ml/200mg de matière sèche et un minimum de production de gaz dans le milieu C ($b_1=85,92$ ml/200mg de matière sèche).

Classement des différents milieux de culture en fonction de leur performance dans la fermentiscibilité des résidus d'oranges :

La Première position est prise par les milieux B et D avec des valeurs respectives :

Milieu B ($b_1=114,33^a$ ml/200mg de matière sèche et un $t_{1/2}=10,61^b$ h)

Milieu D ($b_1=102,92^{ab}$ ml/200mg de matière sèche et un $t_{1/2}=8,68^b$ h)

Alors que le milieu D peut- être comparer avec les milieux NAZ ET A en fonction de leur production maximum de gaz.

La Deuxième position est occupé par les milieux A et NAZ, dont leur valeurs de b_1 sont comparativement proche a celui du b_1 du milieu C :

Milieu A ($b_1=95,25^{bc}$ ml/200mg de matière sèche et un $t_{1/2}=10,94^b$ h)

Milieu NAZ ($b_1=88,66^{bc}$ ml/200mg de matière sèche et un $t_{1/2}=10,22^b$ h)

Troisième position :

Milieu C ($b_1=85,92^C$ ml/200mg de matière sèche et un $t_{1/2}=13,84^a$ h)

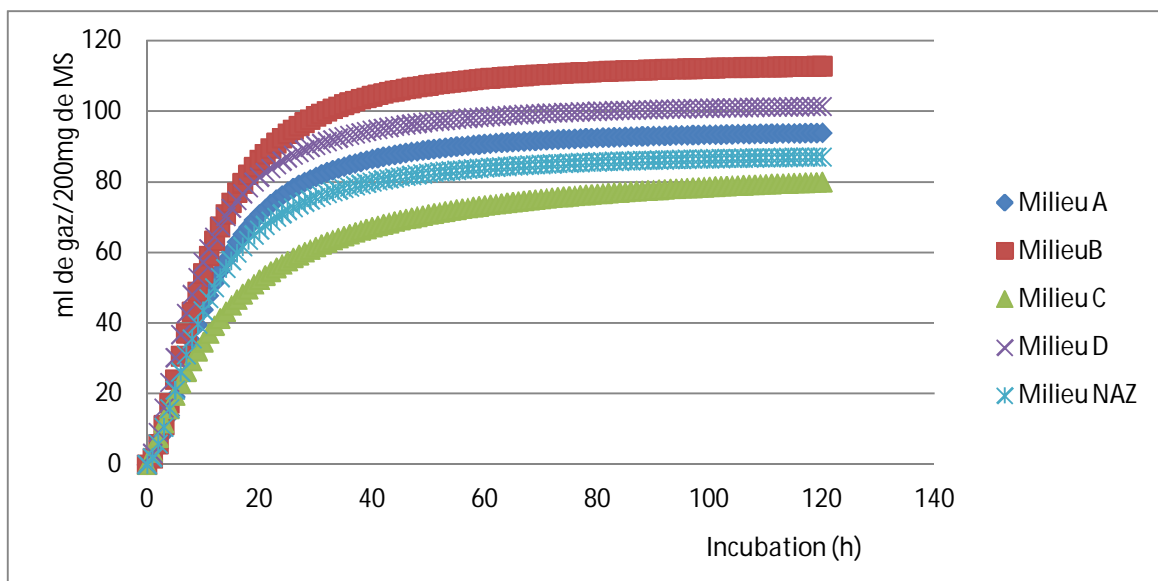


Figure N°23: cinétiques de la production de gaz du résidu d'oranges présents dans les cinq milieux de culture différents.

6. POURCENTAGE DE DEGRADABILITE APPARENTE

Pour chaque type de substrat le poids de la matière sèche à l'issue de 120 h d'incubation a été mesuré, et les données ont été traduites sous forme de graphique :

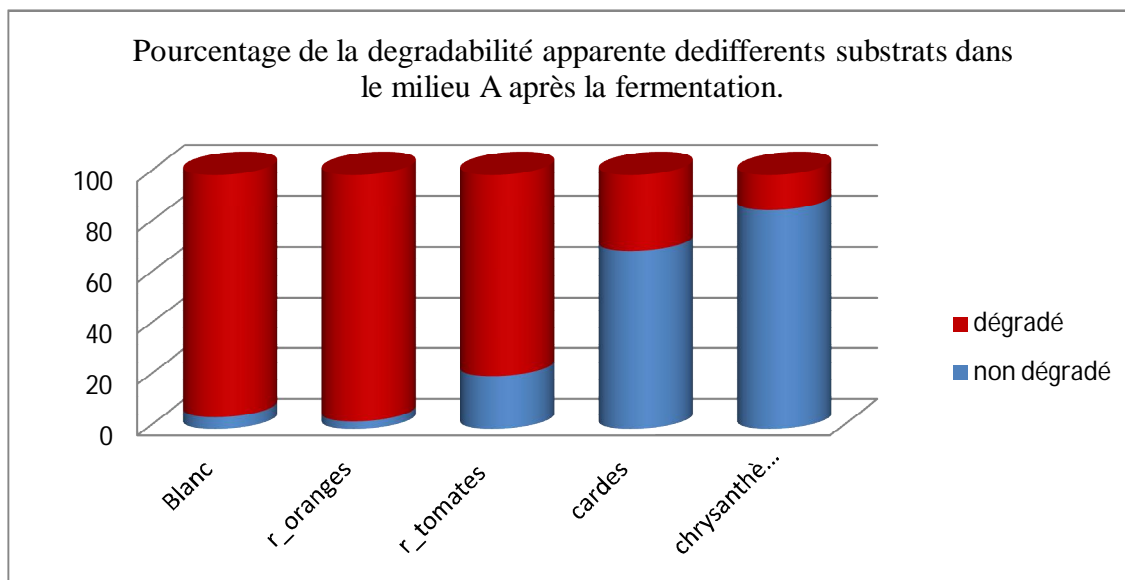


Figure n°24 : pourcentage de la dégradabilité apparente de différents substrats dans le milieu A après la fermentation (Essai 1).

-La dégradabilité apparente des différents substrats (Oranges, tomates, cardes, chrysanthèmes) varie entre 14% et 97%. La valeur la plus élevée est notée pour les oranges, alors que la plus faible est enregistrée pour les chrysanthèmes.

Le pourcentage de la dégradabilité pour les résidus d'oranges et de tomate est significativement supérieur par rapport aux résidus (cardes et chrysanthèmes).

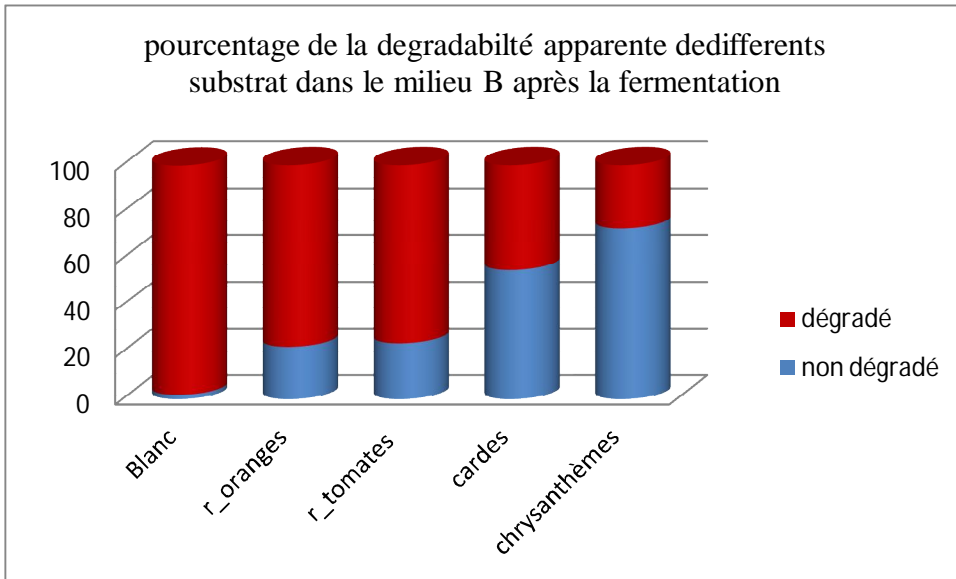


Figure n°25 : pourcentage de la dégradabilité apparente de différents substrats dans le milieu B après la fermentation.

-Comme dans Le milieu A les résidus d'oranges et de tomates sont toujours en tête avec un maximum de dégradabilité, supérieur par rapport aux plantes fibreuses avec des valeurs respectives de 77,83% et 76,33%.

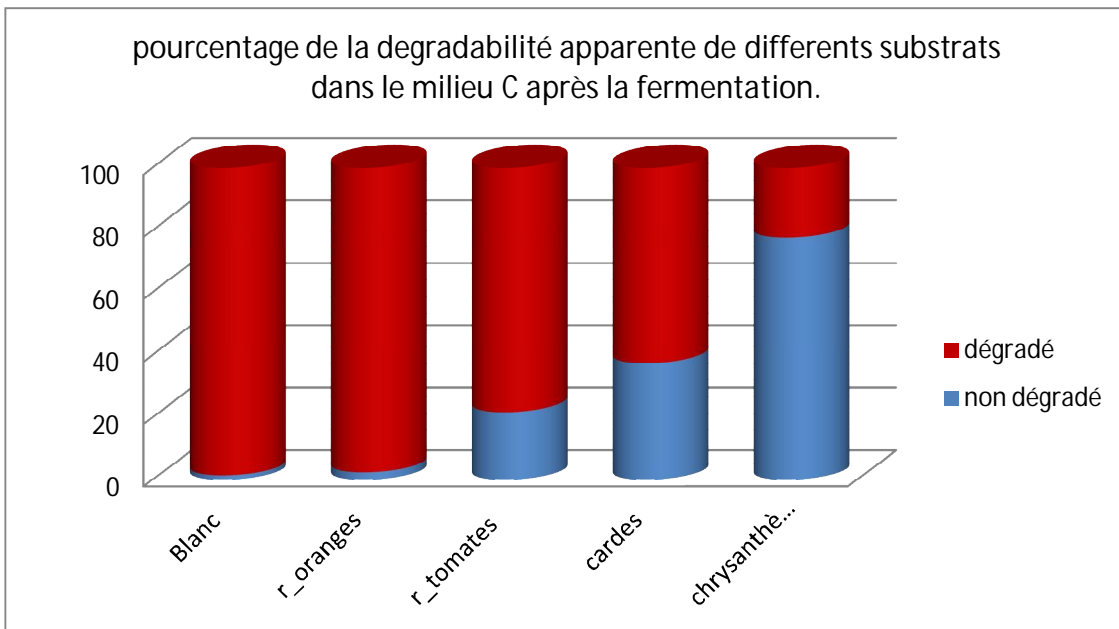


Figure n°26: pourcentage de la dégradabilité apparente de différents substrats dans le milieu C après la fermentation.

La dégradabilité *in vitro* des résidus d'oranges (97,5%) et de tomates (78,17%) par la microflore ruminale est significativement supérieure par rapport à celle enregistrée pour les plantes fibreuses cardes (62,5%) et de chrysanthème (22,25%).

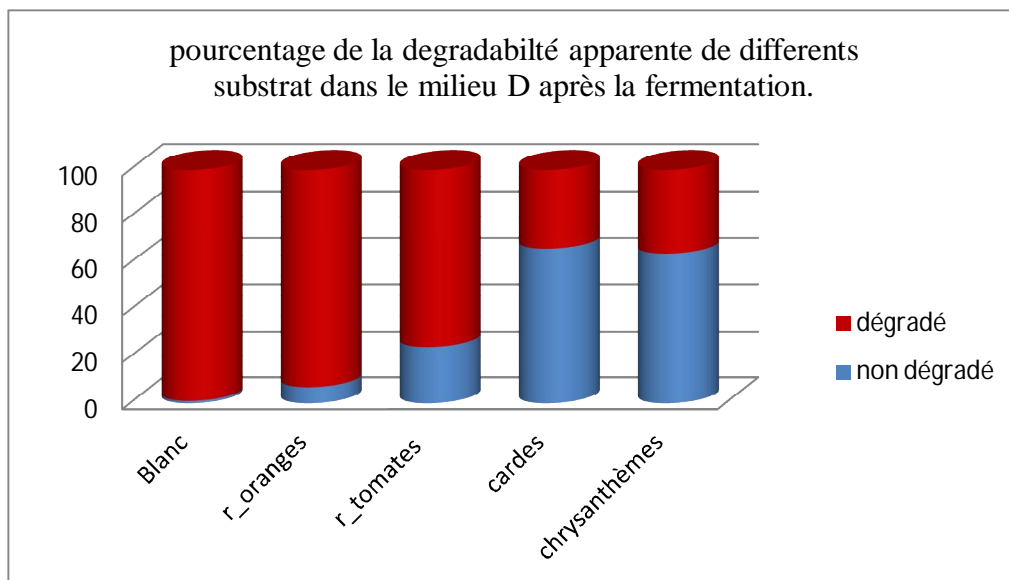


Figure n°27 : pourcentage de la dégradabilité apparente de différents substrats dans le milieu D après la fermentation. .

-Avec une source d'azote comme extrait de levure , la dégradabilité apparente de la MS des résidus agroalimentaires est plus intense pour les résidus d'oranges (93,33%) et de tomates (75,83%) qui sont comparativement supérieur aux plantes fibreuse (cardes et chrysanthèmes) avec des valeurs respectives 33,83% et 36%.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Dans le but d'étudier et pressier les effets des résidus agroalimentaires et aussi celle des plantes fibreuses avec la présence de différents sources d'azote sur l'écosystème ruminale, nous avons évalué les paramètres physico-chimique de la microflore bactérienne ruminale. On a estimé la composition chimique des différents résidus (oranges, tomates, cardes, chrysanthèmes) en faisant des recherche sur leur matière sèche, matière organique, matière minérale et aussi leur pH, leur capacité tampon ainsi que leur fermentiscibilité *in vitro* pendant 120h à 39°C (température du rumen).

L'observation microscopique a permis de mettre en évidence la composition bactérienne de notre liquide ruminale, elle à montré une dominance absolue des bactéries Gram négatifs par rapport aux bactéries Gram positifs, La filtration a enrichi le liquide ruminale en bactéries Gram- en les appauvrissant en bactéries Gram+.

D'après les résultats de notre capacité tampon pour estimer l'endurance de nos différent substrats envers la variation du pH dans le rumen, ceci nous à permis de conclure qu'il faut un grand volume d'acide acétique (0,1N) au delà de 80ml pour faire baisser le pH de 7 à 4, donc l'utilisation de ces substrats (oranges, tomates cardes, chrysanthèmes) et les quatres sources d'azote ne risque pas de provoquer l'acidose chez le bovin, mais le mélange du résidus d'oranges avec différent milieu de culture présente un pH peu acide rapport aux autres résidus mais il n'a pas dépassé la seuil critique pour provoquer l'acidose.

Dans la majorité des cas, le milieu B avec une source d'azote (Glutamate de sodium) favorise la fermentiscibilité rapide des résidus d'oranges, tomates, cardes par rapport aux autres milieux de cultures utilisées (salive artificielle) avec des temps de demi production de gaz assez court, alors que les milieux de culture qui ne contient pas de source d'azote produit moins de gaz et un temp de demi production de gaz assez long par rapport aux autres milieux de culture qui contiennent des sources d'azotes, donc ceci nous permet de conclure que le milieu NAZ (absence de source d'azote) ne risque pas de provoquer le ballonnement chez la vache qui aboutissent à leur mort (les plantes fibreuses produisent moins de gaz par rapport aux résidus agroalimentaires riche en sucre totaux).

Références bibliographiques

- 1- **Amokrane S**, 2010. Etude des prétraitements microbiologiques des résidus agro-alimentaires lignocellulosiques en vue de leur valorisation en alimentation animale. thèse de Magister, Université Mentouri Constantine, pp 21- 29.
- 2- **Anonyme.**, 2014. Fourrage. <http://fr.wikipedia.org/wiki/fourrage>. consulté le 25 mai 2014
- 3- **Anonyme.**, 2013. Chrysanthèmes. Foin <http://fr.wikipedia.org/wiki/foin>. consulté le 25 mai 2014
- 4- **Anonyme.**, 2014. Chrysanthèmes. <http://fr.wikipedia.org/wiki/chrysanthemum>. consulté le 25 mai 2014
- 5- **Anonyme.**, 2014. Cardes. <http://fr.wikipedia.org/wiki/cardes>. Consulté le 25 mai 2014
- 6- **Anonyme.**, 2014. <http://physiologie.envt.fr/spip/IMG/pdf>. Consulté le 25 mai 2014
- 7- **Feller C., Jeanson P., Giumelly P., Bonaly P.**, 1991. Méthode DUBOIS comparaison de différentes méthode d'hydrolyse acides en vue du dosage des glucides totaux dans le sols : Science du sol , vol 29,1, pp 13 – 22.
- 8- **FONTY G., Evelyne F., Geneviève G., Sylvie K., GOUET P.**, 1988. Données nouvelles sur les bactéries cellulolytiques du rumen, Laboratoire de Microbiologie, I.N.R.A. Theix, 63122 Ceyrat, France, pp 19 –32.
- 9- **Groot, J.C.J., Cone J.W., Williams A.B. Debersaques F.M.A, and Lontiga E.** (1996). Multiphasic analysis of in vitro fermentation of ruminants feeds. Animal Feeds Science and Technology 64: 77-89.
- 10- **Thivend P., Fonty G., Jouany J.P., Gouet P.**, 1985. Le fermenteur rumen: Anatomie, Université de Clermont II, B. P. 45, 63170 Aubière, pp 732 à 738.

Annexe

Détermination de la matière sèche

- Etuve réglée à 105°C
- Boîtes de pétri en verre
- Un dessiccateur muni d'un agent déshydratant
- Une balance et une spatule

Détermination de la matière organique et minérale

- Four à moufle
- Creusets en porcelaine
- Balance de précision et une spatule
- Un dessiccateur muni d'un agent déshydratant

Etude de la production de gaz in vitro des différents substrats

- Burette
- Béchers de 100ml
- Agitateur électrique et barreaux magnétiques
- Eprouvette de 10 ml
- Spatule
- pH mètre
- Balance de précision

Résumé

Au cours de notre expérience nous avons étudié les caractéristiques physico-chimiques fermentaires des différents résidus oranges, tomates, et de deux plantes fibreuses cardes, et chrysanthèmes, en évaluant leur composition chimiques (matière sèche, matière minérale, matière organique et teneur en sucre) , leur pH, leur capacité tampon et leur pouvoir de fermentiscibilité *in vitro* pendant 120h à 39°C, ainsi que le pourcentage de dégradabilité apparente de différents substrats. Cela afin d'envisager la possibilité de leur utilisation dans l'alimentation des ruminants.

Le pH du mélange (liquide ruminal+salive artificielle) des cinq milieux de cultures, du premier essai à données des valeurs proche de la neutralité qui est entre (6,94 – 7,04) avant la fermentation et après la fermentation le pH est entre 6,55 à 7,02, et celui du deuxième essai (sans source d'azote) à un pH de 6,76 qui est aussi proche de la neutralité avant la fermentation et après la fermentation est entre 6,09 à 6,93, la dégradabilité est observée plus chez les résidus agroalimentaires par rapport aux plantes fibreuses, le maximum de dégradabilité est observée chez les résidus agroalimentaires est de 97,5% chez les oranges dans le milieu C (Nitrate de potassium) et 79,25% chez les tomates dans le milieu A(bicarbonate de d'ammonium), une dégradation accélérée avec une forte production de gaz provoque le ballonnement chez l'animal et aboutissent à la mort.

Summary

In our experiment, we studied the physicochemical characteristics of different residues oranges, tomatoes, chard, and chrysanthemums, assessing their chemical composition (dry matter, mineral matter, organic matter and total sugar content), pH, buffer and power fermentiscibilité in vitro for 120 hours at 39 ° C capacity, and the percentage of apparent degradability disputes substrate and the activity of the rumen microflora in vitro were determined. This is to consider the possibility of their use in ruminant feed. The pH of the mixture (liquid + ruminal artificial saliva) of the four culture media, the first test data to the near neutral pH that ranges between (6.94 to 7.04) before and after the fermentation the fermentation the pH is between 6.55 to 7.02, and that of the second test (no nitrogen source) at a pH of 6.76 which is too close to neutrality before the fermentation and after the fermentation is between 6.09 to 6, 93 degradability is observed more in food residues compared to fibrous plants, the maximum degradability was observed in food residues is 97.5% for oranges in the middle C and 79.25% for tomatoes in medium a, accelerated with a high production of gas degradation causes bloat in animals and lead to death.

ملخص

قمنا في تجربتنا بدراسة الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للمواد التالية : برتقال, طماطم , الأفحوان, و تقييم تكوينها، الحموضة ودرجة، (السكر محتوى ومجموع العضوية والمواد، المعدنية المواد، الجافة المادة) الكيميائي، النزاعات واضحة ونسبة، القدرات C ° 39 في ساعة 120 لمدة المختبر في السلطة و العازلة إمكانية في النظر هو هذا. تحديدها تم المختبر في الكرش الميكروفلورا نشاطو الركيزة تحلل المجتررة الحيوانات تغذية في استخدامها

ثقافة الإعلام وسائل من (الكرش الاصطناعي اللعاب + السائل) خليط الهيدروجيني الرقم بين ما يتراوح هذا من بالقرب محايدة الهيدروجيني الرقم إلى الأول الاختبار بيانات، الأربعة الاختبار من وذلك، 6،55-7،02 بين الحموضة درجتو التخمر والتخمير وبعد قبل (6،94-7،04) من جدا قريبة هي والتي 6.76 من الهيدروجيني الرقم في (النيتروجين مصدر أي) الثاني بقايا في 93 أكثر تحلل لوحظ، 6، حتي 6،09 بين ما التخمر بعدو التخمر قبل الحياض للبرتقال 97.5% هو الطعام بقايا تحلل أقصى في لوحظ، الليفيّة النباتات مع مقارنة الطعام الغاز تدهور أسباب من عالية إنتاج تسارع مع، A، متوسطة في للطماطم 79.25% C و الوسط في الوفاة إلى يؤدي و الحيوانات في بالانتفاخ تشعر

Nom : Coulibaly
Prénom : Aboubacar Sidiki

Date de soutenance : 29/06/2014

Titre : Analyse de la cinétique de fermentation *in vitro* des résidus de tomates et d'oranges et de deux plantes fibreuses, dans différentes sources d'azote selon un modèle logistique.

Résumé

Au cours de notre expérience nous avons étudié les caractéristiques physico-chimiques des différents résidus oranges, tomates, cardes, et chrysanthèmes, en évaluant leur composition chimiques (matière sèche, matière minérale, matière organique et teneur en sucre totaux) , leur pH, leur capacité tampon et leur pouvoir de fermentiscibilité *in vitro* pendant 120h à 39°C, ainsi que le pourcentage de dégradabilité apparente de différents substrat et l'activité de la microflore ruminale *in vitro* ont été déterminées. Cela afin d'envisager la possibilité de leur utilisation dans l'alimentation des ruminants.

Le pH du mélange (liquide ruminal+salive artificielle) des quatre milieux de cultures, du premier essai à données des pH proche de la neutralité qui varie entre (6,94 – 7,04) avant la fermentation et après la fermentation le pH est entre 6,55 à 7,02, et celui du deuxième essai (sans source d'azote) à un pH de 6,76 qui est aussi proche de la neutralité avant la fermentation et après la fermentation est entre 6,09 à 6,93, la dégradabilité est observée plus chez les résidus agroalimentaires par rapport aux plantes fibreuses, le maximum de dégradabilité est observée chez les résidus agroalimentaires est de 97,5% chez les oranges dans le milieu C et 79,25% chez les tomates dans le milieu A, une dégradation accélérée avec une forte production de gaz provoque le ballonnement chez l'animal et aboutissent à la mort.

Mots clés: Source d'azote, flore ruminale bovin, source d'azote, résidus de tomates, résidus d'oranges, cardes, chrysanthèmes, fermentiscibilité, résidus agroalimentaires

Laboratoire de recherche

Laboratoire de biotechnologies microbiennes. Département de
Microbiologie Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

Membres du jury :

Président du jury : Kadem D.E.D, Professeur à l'université Constantine 1

Rapporteur : Pr Haddi M.L, Professeur à l'université Constantine 1

Examineur : Boudemagh A.E.D, Professeur à l'université Constantine 1

Tutrice : Aggoun A., Doctorante à l'université Constantine 1