

Fermentations ruminales, effet de 11 mono- et sesquiterpènes végétaux *in vitro*

Rumen fermentation, influence of 11 mono and sesquiterpenes *in vitro*

L.-P. BROUDISCOU (1), A. ROUZEAU (1), A. CORNU (2)

(1) UMR Physiologie de la Nutrition et Alimentation, INAPG - INRA, 16 rue Claude Bernard - 75231 Paris Cedex 05

(2) UR Herbivores, Centre INRA de Clermont-Ferrand-Theix - 63122 St Genès Champanelle

INTRODUCTION

Les ruminants ingèrent des terpènes en quantités variables selon les ressources fourragères de l'exploitation ou la composition floristique des parcours ou des pâturages. Ces molécules ont souvent été classées comme antinutritionnelles et leur action sur la physiologie digestive du ruminant est peu connue. Nous avons étudié *in vitro* l'influence sur les fermentations ruminales, de 11 terpènes fréquents dans les plantes consommées par les ruminants : le camphène, le β -caryophyllène, l' α -copaène, le (-) limonène, le (+) limonène, le myrcène, le β -ocimène, l' α -pinène, le sabinène, le γ -terpinène et le thymol.

1. MATERIEL ET METHODES

Les terpènes ont été testés lors d'incubations anaérobies d'une durée de 24 heures. Ces incubations ont été faites en tubes de culture de 75 ml maintenus à 39°C sous agitation (100 rpm) et contenant 2 ml de solution tampon et nutritive et 8 ml d'*inoculum* microbien. Les *inoculums* ont été fournis par 3 fermenteurs continus à effluent double (Broudiscou *et al.*, 1997) ensemencés avec du contenu de rumen caprin et maintenus sur une ration [75 % foin de dactyle / 25 % grains de maïs]. La croissance microbienne dans les tubes de culture a été supportée par l'apport de cellobiose (0,75 mmole /tube), maltose (0,25 mmole /tube), caséine, sulfate et dihydrogène-phosphate d'ammonium.

Chaque terpène a été testé séparément à une concentration initiale de 0,2 % (V/V). Des incubations avec l'*inoculum* complet mais exemptes de terpène ont permis de déterminer le faciès de fermentation témoin. Trois répétitions par type d'incubation ont été faites durant trois jours contigus.

Après 24 h d'incubation, les tubes ont été placés à +4°C pendant 1 h pour échantillonner les terpènes dans le cadre d'une étude connexe, puis 4 ml de milieu de culture ont été stockés à -30°C après ajout d'1 ml d'acide orthophosphorique 25 % (V/V) pour l'analyse des AGV. Les concentrations d'AGV en début et fin d'incubation ont été déterminées par CPG de leurs dérivés 2-chloroéthyle selon une méthode adaptée de Kristensen (2000). La dérivation des AGV avant chromatographie améliore la spécificité de l'analyse.

Les variables étudiées ont été la quantité d'hexoses théoriquement fermentés (HF) en μ moles, calculée selon la méthode de Demeyer et Van Nevel (1975) et les productions d'acétate (C2), propionate (C3) et butyrate (C4) exprimées en moles/100 moles d'HF. Les résultats ont été soumis à une analyse de variance selon la procédure GLM/SAS. Pour chaque variable, les incubations contenant un terpène ont été comparées au témoin par un test de Dunnett.

2. RESULTATS

La concentration élevée des terpènes en tube de culture correspond aux niveaux d'apport maximaux rapportés en essais *in vivo* (1ml /kg MSI) et a été choisie pour estimer

l'amplitude des effets potentiels. Tous les terpènes ont tendu à diminuer l'intensité des fermentations (tableau 1), à l'exception de l' α -pinène qui a induit une augmentation de 140 % de la quantité théorique d'hexoses fermentés en C4 et C5 (résultat non présenté). Les terpènes significativement défavorables aux processus fermentaires ont été le thymol (-71 %) et dans une moindre mesure le sabinène, le β -ocimène (-55 %) le myrcène (-45 %) et le γ -terpinène (-37 %). Par ailleurs, thymol, sabinène, β -ocimène, γ -terpinène et limonène ont orienté les faciès fermentaires vers un accroissement de la production relative de C2 (+24 %), essentiellement au détriment du C3.

Tableau 1 : hexoses fermentés (μ moles) et productions relatives d'AGV (moles/100 moles d'HF) : analyses de variance.

	HF	C2	C3	C4
Source	P<F	P<F	P<F	P<F
Terpène	0,001	0,001	0,001	0,007
Jour	0,49	0,001	0,92	0,001
SED	25,56	5,94	6,25	6,24
Incubation	Moyenne			
témoin	223,7	84,6	49,4	40,5
camphène	156,9	92,8	39,1	50,6
β -caryophyllène	198,8	88,1	43,2	40,6
α -copaène	159,4	84,1	51,2	43,1
(-) limonène	148,6	105,5 a	29,6 a	41,8
(+) limonène	168,1	105,5 a	28,5 a	40,9
myrcène	122,2 b	86,5	27,6 a	55,7
β -ocimène	102,1 c	105,5 a	33,7	49,9
α -pinène	520,1 c	1,4 c	3,3 c	71,6 c
sabinène	101,1 c	119,4 c	39,2	42,7
γ -terpinène	141,5 a	104,8 a	30,4 a	48,4
thymol	64,2 c	115,3 c	53,0	48,8

test de Dunnett : a : P<0,05, b : P<0,01, c : P<0,001

CONCLUSION

La capacité d'inhibition des processus fermentaires a été clairement établie *in vitro* pour 5 des 11 molécules testées, en particulier pour le thymol, dont le caractère bactériostatique est connu (Evans et Martin, 2000). Seuls le camphène et les deux sesquiterpènes – β -caryophyllène et α -copaène – n'ont pas significativement perturbé le métabolisme microbien. L'intensification des fermentations ruminales vers la production exclusive de C4 et C5 en présence d' α -pinène suggère une inhibition différentielle des métabolismes fermentaires par ce terpène plus que son utilisation comme substrat, *in vitro* du moins.

Broudiscou L.P., Papon Y., Fabre M., Broudiscou A.F. 1997. *J. Sci. Food. Agric.* 75, 273-280

Demeyer D.I., Van Nevel C.J. 1975. In McDONALD I.W., WARNER A.C.I. (Editors), *Digestion and metabolism in the ruminant.* University of New England Publishing Unit, Australie. 366-382

Evans J.D., Martin S.A. 2000. *Current Microbiol.* 41, 336-340.

Kristensen N.B. 2000. *Acta Agric. Scand., Sect A, Animal Sci.* 50, 231-236