



Modélisation systémique de la digestion dans le rumen : comparaison des modèles existants, modélisation des flux d'amidon, approche thermodynamique des fermentations

Anne Offner

► To cite this version:

Anne Offner. Modélisation systémique de la digestion dans le rumen : comparaison des modèles existants, modélisation des flux d'amidon, approche thermodynamique des fermentations. Sciences du Vivant [q-bio]. INAPG (AgroParisTech), 2003. Français. NNT : 2003INAP0015 . pastel-00000448

HAL Id: pastel-00000448

<https://pastel.hal.science/pastel-00000448>

Submitted on 9 Feb 2004

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Institut National
Agronomique
Paris-Grignon



Institut National de
la Recherche
Agronomique

THESE

Présentée par

Anne OFFNER

Pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon

Discipline: Nutrition Animale

Modélisation systémique de la digestion dans le rumen:

*comparaison des modèles existants, modélisation des flux d'amidon,
approche thermodynamique des fermentations*

Thèse dirigée par Daniel SAUVANT

Soutenue le 22 octobre 2003

Devant le jury composé de:

Daniel SAUVANT	Professeur à l'INA P-G	Président
Michael R. MURPHY	Professor at University of Illinois	Rapporteur
Jean-Louis PEYRAUD	Directeur de recherche à l'INRA, Rennes	Rapporteur
Alex BACH	Director of the ruminant department of IRTA, Spain	Examineur
Gérard BLANCHART	Professeur de biologie à l'Université de Nancy I	Examineur
Jean-Pierre JOUANY	Directeur de recherche à l'INRA, Theix	Examineur
Richard SPRATT	Global Laboratory Director, Cargill Animal Nutrition	Examineur
Johannes VAN EYS	Consultant, G.A.N.S. Inc.	Examineur

Ce travail a donné lieu aux publications et communications suivantes:

Publications dans les revues à comité de lecture

Offner, A., Bach, A., Sauvant, D., 2003. Quantitative review of *in situ* starch degradation in the rumen. Anim. Feed Sci Technol. 106, 81-93.

Offner, A., Sauvant, D., 2003. Prediction of *in vivo* starch digestion in cattle from *in situ* data. (*Article accepté dans Anim. Feed Sci Technol.*)

Offner, A., Sauvant, D., 2003. Comparative evaluation of the Molly, CNCPS and LES rumen models. (*Article accepté dans Anim. Feed Sci Technol.*)

Offner, A., Sauvant, D., 2003. Thermodynamic modeling of ruminal fermentations. (*Article en préparation*)

Communications dans des congrès scientifiques

Les posters sont présentés en Annexe 5

Offner, A., Sauvant, D., Chapoutot, P., van Eys, J., Bach, A., 2001. Quantitative analysis of *in situ* starch degradation in the rumen. J. Anim. Sci. 79, suppl. 1 / J. Dairy Sci. 84, suppl. 1, 80.

Offner, A., Sauvant, D., van Eys, J., Bach, A., 2001. Prédiction de la digestion de l'amidon dans le rumen à partir des données *in sacco*. 8^{ème} Renc. Rech. Ruminants, Paris, 5-6 décembre 2001, 313.

Offner, A., Bach, A., Sauvant, D., 2002. Influence of grain density on rumen and digestive characteristics. J. Anim. Sci., 80, suppl. 1 / J. Dairy Sci., 85, suppl. 1, 398.

Offner, A., Bach, A., Sauvant, D., 2002. Modeling starch digestion in the rumen: a comparative approach. J. Anim. Sci. 80, suppl. 1 / J. Dairy Sci. 85, suppl. 1, 184.

Offner, A., Sauvant, D., 2002. Digestive interactions: responses to some variations of the amount of starch digestible in the rumen. Book of abstracts of the 53rd Annual Meeting of the EAAP n° 8. Cairo, Egypt, 1-4 September 2002, 57.

Offner, A., Chapoutot, P., Sauvant, D., 2002. Comparaison de trois modèles du rumen sur leur capacité à prédire la digestion des glucides pariétaux et amylacés. 9^{ème} Renc. Rech. Ruminants, Paris, 4-5 décembre 2002, 336.

Offner, A., Sauvant, D., 2003. Modélisation thermodynamique du métabolisme microbien dans le rumen. Renc. Microbiologistes INRA, Dourdan, 5-7 mai 2003.

Offner, A., Sauvant, D., 2003. Contribution of ruminally degraded starch to the prediction of fermentable organic matter for ruminants. J. Anim. Sci. 81, suppl. 1 / J. Dairy Sci. 86, suppl. 1, 267.

Offner, A., Sauvant, D., 2003. Comparison of three systems to estimate the fraction of non-fiber carbohydrate, and its ruminal digestibility, in common feedstuffs. J. Anim. Sci. 81, suppl. 1 / J. Dairy Sci. 86, suppl. 1, 152.

Remerciements

Ce travail a été réalisé à l'Unité Mixte de Recherche «Physiologie de la Nutrition et Alimentation» à l'Institut National Agronomique Paris-Grignon. Il a bénéficié d'un co-financement entre l'INRA et Cargill Animal Nutrition (Minneapolis, Etats-Unis).

Je tiens tout d'abord à remercier **Daniel Sauvart**, professeur de zootechnie et directeur de l'unité, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. La qualité de sa formation et de ses conseils, le soutien et la confiance qu'il m'a accordés, m'ont permis de réaliser ces trois années de recherche dans les meilleures conditions.

Je remercie également **Jan van Eys** pour m'avoir offert l'opportunité d'effectuer ce travail. Merci pour ses conseils avisés et pour l'intérêt porté à mes travaux.

Je remercie les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail et tout particulièrement **Jean-Louis Peyraud**, directeur de recherche à l'INRA de Rennes, et **Michael Murphy**, professeur à l'université d'Illinois, pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ma thèse.

Je remercie également les examinateurs de ce travail: **Alex Bach** (IRTA), **Dominique Blanchard** (Université de Nancy), **Jean-Pierre Jouany** (INRA), **Richard Spratt** (Cargill) et **Jan van Eys**.

Muchas gracias a **Alex Bach** en el Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries por sus críticas constructivas y su ayuda en este trabajo.

I would like also to thank the research team from Cargill Animal Nutrition, especially **Michael Craig**, **Richard Spratt** and **David Vagnoni** for their support in this project.

Je remercie chaleureusement l'ensemble du personnel du laboratoire pour leur aide et leur disponibilité. Merci à **Laurent Broudiscou** pour m'avoir permis de découvrir les joies des manip en fermenteurs. Merci beaucoup à mes « co-locataires » **Valérie Berthelot** et **Olivier Martin** de m'avoir supportée au quotidien. J'adresse tous mes remerciements aux enseignants, chercheurs et ingénieurs qui m'ont aidée par leurs conseils tout au long de ces trois années. Je remercie également le personnel administratif toujours prêt à rendre service et le personnel en charge des analyses de laboratoire pour les dosages effectués.

Um muito obrigado aos ex e futuros doutorandos, principalmente à **Paulo Lovatto** e **Patricia Andrade**, pelo "toque" brasileiro !

Sommaire

Introduction	1
Partie I. Comparaison des modèles du rumen	6
1. Historique de la modélisation appliquée à la digestion chez les ruminants	7
2. Comparaison « qualitative » des représentations du rumen	9
3. Comparaison des modèles à partir de données expérimentales - <i>article</i> -	16
4. Conclusion partielle	49
Partie II. Développement d'un modèle de prédiction de la digestion de l'amidon chez les ruminants	50
1. Quantitative review of <i>in situ</i> starch degradation in the rumen - <i>article</i> -	51
2. Prediction of <i>in vivo</i> starch digestion in cattle from <i>in situ</i> data - <i>article</i> -	68
3. Intégration des flux d'amidon dans les systèmes d'alimentation	87
4. Effets des traitements technologiques sur l'utilisation de l'amidon	93
5. Conséquences digestives des variations des teneurs en amidon dégradable dans le rumen	96
6. Propositions pour le développement d'un modèle mécaniste de la digestion de l'amidon	99
7. Conclusion partielle	103
Partie III. Développement d'un modèle du métabolisme ruminal basé sur les lois thermodynamiques	104
1. Thermodynamic modeling of ruminal fermentations - <i>article</i> -	105
2. Etude expérimentale des effets du pH, de E_v , et de H_2 sur l'activité fermentaire des micro-organismes du rumen	125
3. Conclusion partielle	143
Discussion générale	145
Conclusion et perspectives	160
Références bibliographiques	163
Annexes	174
<i>Liste des figures</i>	191
<i>Liste des tableaux</i>	194
<i>Liste des abréviations</i>	196

Introduction

Au niveau mondial, le cheptel ruminant comprend plus de 3 milliards de têtes et s'agrandit d'environ 15 millions de têtes par an. Les productions de viande bovine (+ 0,75 Mt par an) et de lait (+ 6 Mt par an) sont également en augmentation. Ces données sont cependant à modérer car une forte hétérogénéité géographique est observée.

Les ruminants valorisent principalement l'herbe et les productions fourragères. Néanmoins, la part d'aliments concentrés dans les rations a fortement augmenté. Dans les années 70, afin de satisfaire les besoins de la population et de maintenir le niveau de revenu des éleveurs, des programmes d'amélioration génétique très efficaces ont contribué à une augmentation du potentiel de production des animaux, laitiers en particulier. Cette augmentation du potentiel génétique a en même temps conduit à une augmentation des besoins en nutriments de l'animal. L'utilisation croissante des aliments concentrés (Fig. 1) a alors visé à assurer un apport suffisant de l'ensemble des éléments nutritifs et exprimer ainsi l'accroissement du potentiel.

La production d'aliments composés pour les ruminants a contribué aux progrès du secteur de l'industrie de l'alimentation animale dans les années 1960 - 2000. Les aliments pour ruminant représentent en effet 25% des aliments concentrés commercialisés. Au niveau mondial, le "volume" annuel est de 155 millions de tonnes (Mt) dont 34 Mt en Europe et 4,4 Mt en France.

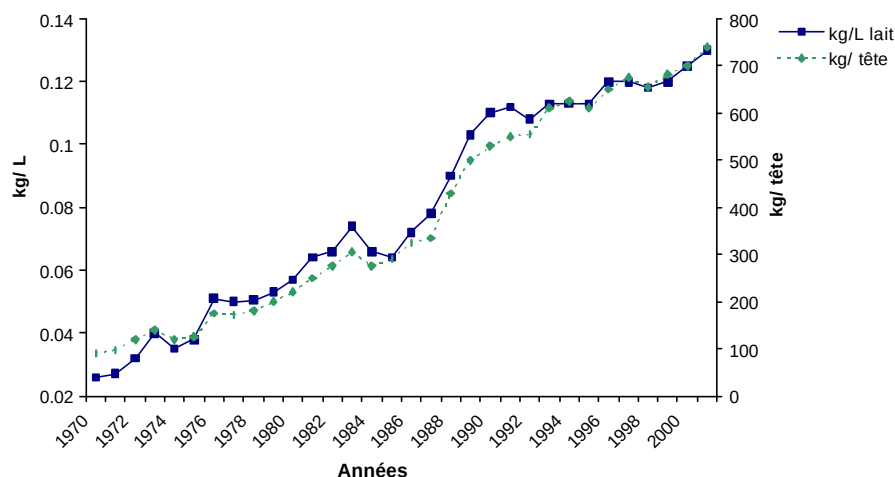


Fig. 1. Evolution de la consommation d'aliments composés chez les vaches laitières

(Source: Y. Drome, INRA ESR).

Actuellement, grâce à une organisation nationale efficace le potentiel laitier continue de progresser rapidement (+ 80 à 90 kg de lait/an), par contre, il apparaît que le milieu devient un frein de plus en plus marqué à l'expression de ce potentiel (Fig. 2). On peut

s'interroger sur les origines de cette évolution, en particulier on doit se demander si l'alimentation ne serait pas un facteur majeur en raison d'une limitation de la capacité d'ingestion surtout de la capacité digestive des animaux qui n'a pour ainsi dire jamais préoccupé les généticiens et les sélectionneurs.

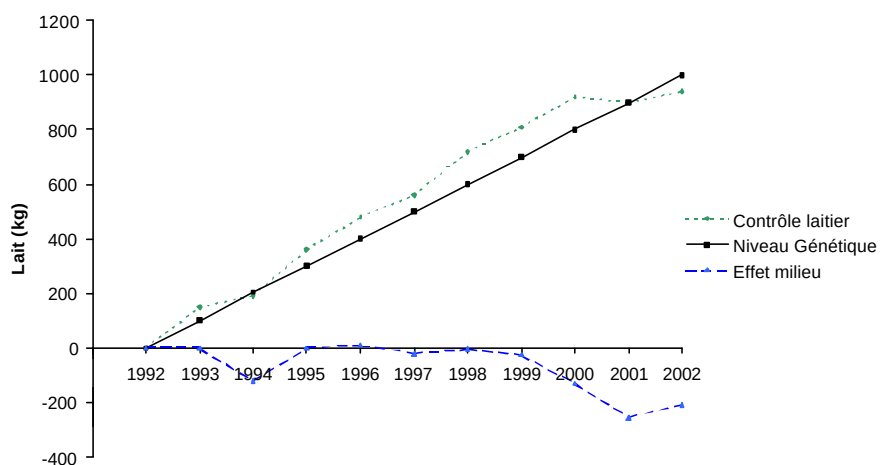


Fig. 2. Evolution génétique, phénotypique et de milieu en race prim'holstein

(Source: J.C. Mocquot et P. Le Mezec, Institut de l'élevage).

Classiquement, les régimes alimentaires sont formulés de façon à s'adapter à la **couverture des besoins** nutritionnels des animaux. Des systèmes d'évaluation des aliments et des besoins ont ainsi été développés dans différents pays (INRA, 1988; AFRC, 1993; NRC, 2001). Ces systèmes, qui considèrent plus ou moins l'organisme animal comme une "boîte noire", deviennent inadaptés face aux problématiques actuelles. En effet, les enjeux liés aux filières et à la nutrition animale se sont diversifiés, non seulement autour de la production, mais aussi de la **qualité des produits**, du **respect de l'environnement** ou encore du **bien-être animal**. Le concept de **loi de réponse multiple** aux variations du régime (Sauvant, 1992) intègre cette multiplicité d'objectifs pour la filière. Ce concept vise à expliquer et prédire les réponses nutritionnelles et zootechniques de l'animal aux variations des régimes et des pratiques alimentaires. Il est basé sur une approche systémique de la nutrition et progresse actuellement principalement grâce à l'analyse de bibliographie quantitative et à la **modélisation**. Par rapport à l'approche classique utilisant les systèmes d'unité d'alimentation, cette nouvelle approche entraîne une représentation à la fois plus globale et plus **"segmentée"** de l'organisme vers des niveaux organisationnels sous-jacents. Cette segmentation conduit notamment à se focaliser sur les rôles des organes clés, tels que le rumen, dans la détermination des réponses de l'organisme entier. Ce travail de thèse s'est donc orienté sur le rumen. Les problématiques envisageables autour de cet organe sont nombreuses, nous nous sommes donc plus focalisé sur deux aspects sur lesquels la

connaissance devait progresser: les **flux digestifs d'amidon** et le rôle des **lois de la thermodynamique** dans le déroulement de la digestion ruminale (Fig. 3).

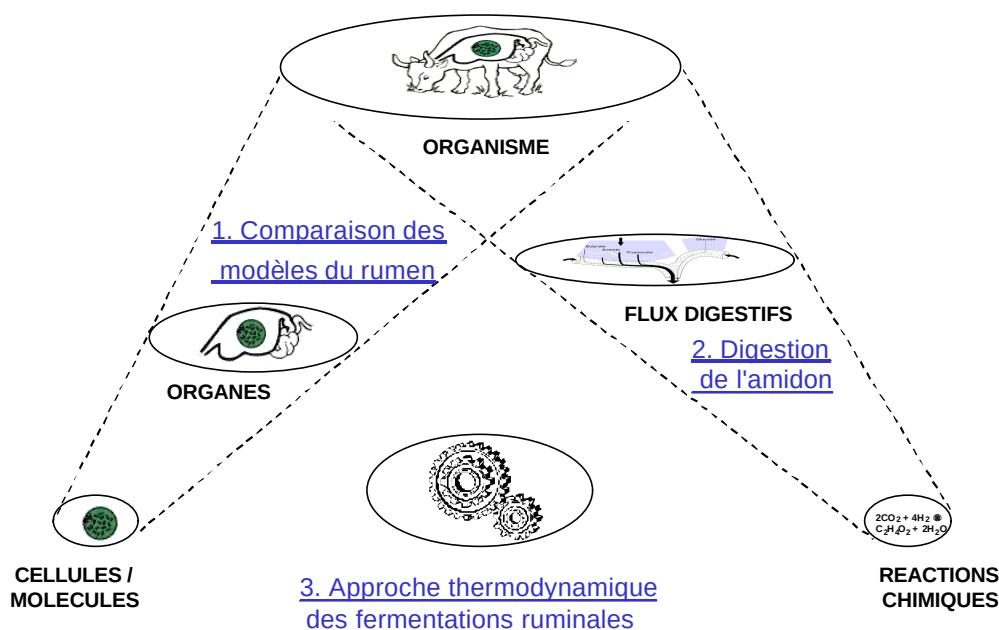


Fig. 3. Niveaux d'étude abordés au cours du travail de thèse.

Le **rumen**, siège des fermentations microbiennes, est un déterminant majeur des réponses du tube digestif et conditionne de ce fait largement les réponses globales de l'animal. Même si les objectifs n'étaient pas exprimés de la sorte à l'origine, l'intérêt des chercheurs pour le rumen a déjà plus d'un siècle. Les modélisateurs, quant à eux, se sont emparés de la problématique rumen depuis environ 35 ans. En effet, le premier modèle mécaniste de la digestion dans le rumen a été publié par Baldwin et al. (1970). Ces modèles se sont ensuite largement développés. Une **comparaison des principaux modèles du rumen** disponibles a été réalisée dans la première partie de notre travail. Cette étape semble pratiquement indispensable et scientifiquement justifiée car elle permet d'éviter des temps parfois longs de mise au point de nouveaux modèles. Trois modèles (Baldwin et al., 1987; Lescoat et Sauvant, 1995; CNCPS, 2000) ont donc été évalués et comparés à partir d'un ensemble de données expérimentales. Une base de données regroupant des observations *in vivo*, notamment des mesures de digestibilité, a été utilisée (Sauvant et Mertens, *communication personnelle*); les données ont permis de couvrir une grande diversité de situations alimentaires. Les points forts et les points faibles des modèles ont donc pu être dégagés. Ils ont ensuite conditionné l'effort de recherche et de modélisation, conduisant ainsi à explorer de nouvelles voies pour améliorer la prédiction des flux digestifs et des fermentations ruminales.

Dans le cadre de notre approche centrée sur les déterminants des lois de réponse, l'étude des flux digestifs permet d'appréhender l'efficacité de transformation des aliments, la qualité des produits et les conséquences sur l'environnement. Les rejets azotés peuvent par exemple entraîner une pollution des eaux. Les recherches portant sur les flux de protéines ont été nombreuses; spécialement pour évaluer la synthèse protéique d'origine microbienne. Des principes de modélisation mécaniste de prédiction des flux de protéines ont ensuite été inclus de manière simplifiée dans les systèmes d'alimentation (ex. système PDI en France). Parmi les autres nutriments, les fibres, constituant jusqu'à 70% de la MS ingérée par l'animal, jouent un rôle pour le contrôle de l'ingestion et l'apport d'énergie. Néanmoins, compte tenu de la part croissante d'énergie apportée sous forme d'**amidon** (jusqu'à 50% de la MS), une étude approfondie des causes de variation des flux digestifs d'amidon apparaît essentielle. En effet, ces flux contrôlent largement la répartition de la digestion de la matière organique entre les différents organes. Cette problématique répond à une demande des professionnels compte tenu du coût énergétique impliqué. Les synthèses effectuées sur les flux d'amidon ont déjà apporté des résultats, confirmant notamment l'intérêt de l'approche des lois de réponse multiple (Sauvant et al., 1994; Sauvant, 1997a). Il est apparu que les variations de partition de la digestion de l'amidon influençaient l'ingestibilité des régimes ainsi que les réponses de la production laitière et des taux butyreux et protéiques du lait. De ce fait, il a semblé important de prolonger et préciser ces approches. La seconde partie de notre travail vise précisément à améliorer la **prédiction des flux digestifs d'amidon** et à intégrer ces concepts en formulation des régimes. Notre étude a principalement porté sur une analyse de bases de données relatives aux dégradations d'amidon *in sacco* et aux flux duodénaux *in vivo*. Ensuite, un sous-modèle de digestion de l'amidon dans l'ensemble du tube digestif (rumen, intestin grêle et gros intestin) a été développé.

Les modèles du rumen doivent non seulement prédire les flux duodénaux de nutriments mais aussi la formation des produits terminaux de fermentation. Ce dernier point reste insatisfaisant dans les modèles disponibles actuellement. C'est pourquoi, la troisième partie de notre travail a porté sur la **représentation des fermentations ruminales**. Cette étude s'est appuyée sur une approche novatrice basée sur la prise en compte des principes de la **thermodynamique** appliqués au métabolisme microbien. Ainsi, un sous-modèle de fonctionnement thermodynamique du rumen a été développé. L'objectif est de prédire la partition des flux de carbone entre la biomasse fermentée, les acides gras volatils et les gaz produits. Ce modèle vise également à déterminer de façon mécaniste les variations du pH ruminal.

Partie I.

Comparaison des modèles du rumen

1. Historique de la modélisation appliquée à la digestion chez les ruminants

Le développement des systèmes d'évaluation des aliments et des besoins des animaux a commencé dans la seconde partie du XIX^e siècle dans un contexte de rationalisation de l'élevage (Wolff, 1874; Fjord, 1889). L'objectif est d'adapter les régimes alimentaires aux besoins des animaux pour accompagner l'amélioration de productivité des exploitations. Des systèmes d'unités d'alimentation ont ainsi été définis pour préciser les apports et les besoins énergétiques et protéiques de l'animal. La figure 1 montre l'évolution et le développement de ces systèmes au cours du XX^e siècle. Les numéros indiqués sur la figure 1 correspondent aux numéros des publications référencées en annexe 1.

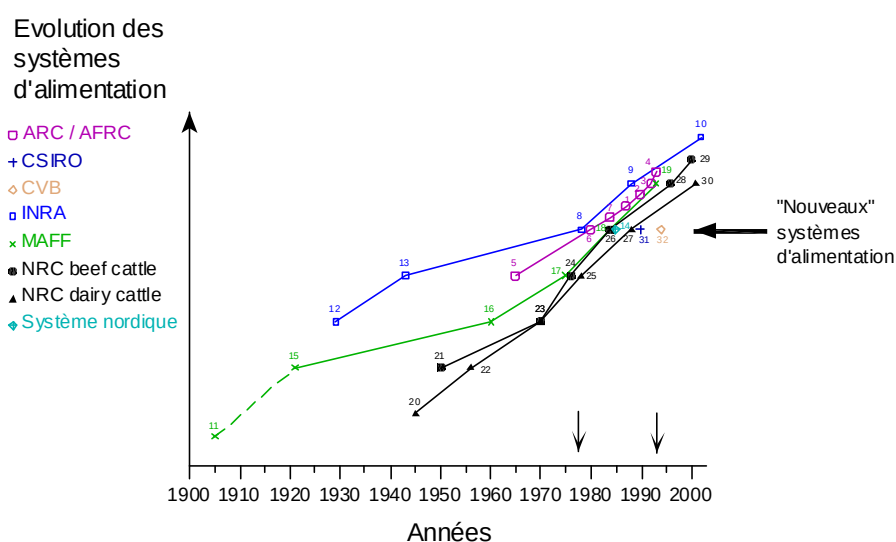


Fig. 1. Evolution et développement des principaux systèmes d'évaluation des aliments et des besoins des ruminants.

Les systèmes ont évolué de façon notable à partir des années 40, avec entre-autres l'introduction "officielle" de l'unité fourragère par A. Leroy (1943). Les unités d'alimentation utilisées actuellement en France pour les ruminants ont été redéfinies en 1978. Les systèmes protéiques sont basés sur les protéines digestibles dans l'intestin (PDI) ou les protéines métabolisables (MP) et s'appuient, depuis 1988 en France, sur des données de dégradation des protéines *in sacco*. Les systèmes énergétiques sont basés sur l'énergie métabolisable (ME) ou l'énergie nette (NE). L'estimation de l'efficacité d'utilisation de ME pour les besoins d'entretien, de croissance ou de lactation reste difficile et critiquée (France et al., 2000). L'utilisation des systèmes d'unités d'alimentation s'est largement étendue et a conduit à la création de logiciels de rationnement, comme *INRA*tion (1988). Un

ralentissement de leur évolution est néanmoins perceptible depuis les dix dernières années. Ces systèmes présentent en effet certaines limites (Webster, 1992; Beever et al., 2000). D'une part, les interactions entre protéine et énergie n'y sont pas représentées de façon entièrement adéquate. D'autre part, leur capacité à prédire les réponses de l'animal aux variations des régimes reste encore très limitée. *INRA*tion a ainsi intégré quelques adaptations et propose d'étudier l'effet de la variation de concentré sur les quantités ingérées, la production et le poids vif. La composition des produits (lait, viande) est rarement estimée. *INRA*tion permet cependant d'étudier les effets des quantités de lysine et de méthionine ingérées sur le taux protéique du lait. Ces systèmes ne permettent pas encore de répondre aujourd'hui à toutes les nouvelles préoccupations de la filière: qualité des produits, maîtrise des déchets pour le respect de l'environnement, bien-être animal. Les systèmes d'unités d'alimentation sont basés sur une approche de modélisation empirique et statique; le développement des modèles mécanistes, à compartiments, semble être une alternative possible pour progresser et relever les défis actuels.

A partir des années 70, avec notamment les travaux de Baldwin et al. (1970), les phénomènes digestifs et métaboliques ont été abordés avec une approche de modélisation systémique, beaucoup plus mécaniste que la précédente. Les recherches portant sur la modélisation du rumen ont ensuite progressé régulièrement avec en moyenne une publication majeure tous les 2 ans (Fig. 2) proposée par quelques équipes impliquées aux Etats-Unis (universités de Cornell et de Davis) et en Europe (France, Pays-Bas, Royaume-Uni). Les comparaisons de modèles du rumen n'ont commencé qu'une vingtaine d'années plus tard, elles restent limitées en nombre compte tenu de la lourdeur de ce type de travail.

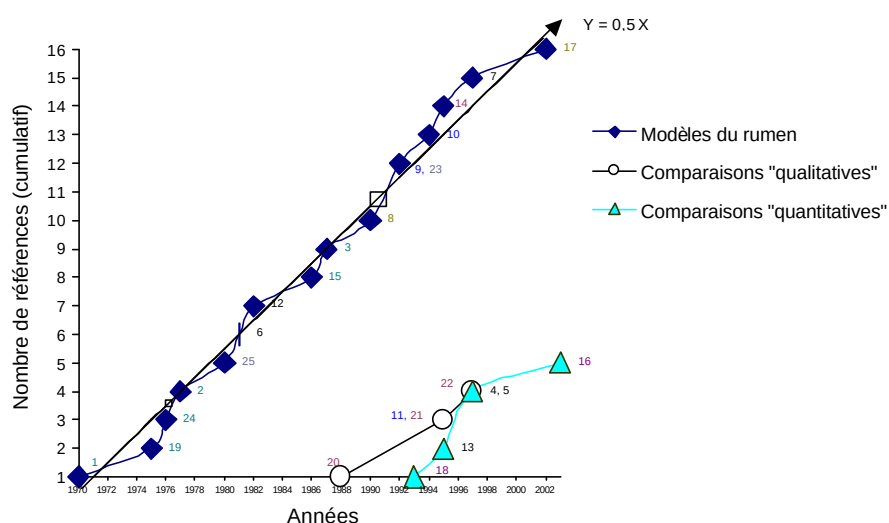


Fig. 2. Evolution du nombre de publications concernant la modélisation du rumen.
(Les numéros correspondent aux numéros des références présentées en annexe 2).

Dans le futur, les modèles mécanistes seront vraisemblablement plus largement reconnus et remplaceront progressivement les modèles factoriels empiriques qui sont utilisés à l'heure actuelle dans les systèmes d'alimentation (Baldwin, 2000).

2. Comparaison "qualitative" des représentations du rumen

Les modèles du rumen ont évolué conjointement à l'accumulation de données expérimentales et au développement de l'informatique. Ces modèles ont pour principal objectif de prédire les variations des flux de nutriments au niveau du rumen. Les évolutions apportées aux modèles concernent notamment les modalités et critères mis en oeuvre pour représenter le fonctionnement ruminal. Ainsi, la figure 3 souligne une large diversité du nombre de variables d'état représentées, entre 7 et 23 selon les modèles. Ce nombre ne semble pas suivre de tendance et ne s'accroît donc pas avec l'accumulation des connaissances. Les fractions de glucides et protéines d'origine alimentaire sont généralement définies de façon détaillée. Trois à cinq fractions sont considérées pour décrire les glucides. Le nombre des fractions protéiques, peu prises en compte au départ, tend à augmenter.



Fig. 3. Evolution du nombre de variables d'état représentées dans les modèles du rumen.

Le débat sur le nombre optimal de populations microbiennes à considérer reste ouvert. En effet, ce nombre a continuellement oscillé entre 1 et 3 groupes microbiens. Par contre, la représentation des phénomènes de transit reste un point critique dans les modèles et a fait l'objet d'améliorations progressives. De même, les phénomènes liés à la rumination sont de plus en plus intégrés dans les modèles. L'ambition explicative des modèles du rumen pour ces phénomènes est variable. D'autres modèles, un peu simplifiés, ont été développés pour représenter plus spécifiquement les phénomènes de régulation de l'ingestion (Bywater, 1984; Illius et Gordon, 1991; Sauvant et al., 1996).

Une approche comparative plus détaillée a été réalisée pour six modèles du rumen développés entre 1970 et 2002. Un tableau synthétique est présenté dans les pages suivantes (tableau 1), il reprend les principales caractéristiques des modèles en terme de dégradation, de transit, de rumination, et encore de croissance microbienne. Ainsi, les modèles représentent tous la dégradation des substrats de façon assez similaire. Ils distinguent pour chaque nutriment une fraction potentiellement digestible (soluble ou insoluble) et une fraction indigestible. Par contre, les méthodes d'estimation de la fraction indigestible sont parfois différentes, notamment dans les cas des fibres. Ces différences peuvent porter à conséquence en modifiant l'estimation de la valeur énergétique d'un aliment. Le modèle développé par Baldwin est légèrement différent puisqu'il ne fractionne pas *a priori* les glucides alimentaires; la digestion se produit si cela est rendu possible par la cinétique de solubilisation, l'utilisation et le passage des nutriments. Le métabolisme microbien est le plus souvent caractérisé par deux groupes bactériens (amylolytiques vs. cellulolytiques). Les interactions microbiennes sont peu prises en compte. Les valeurs de la composition chimique, et notamment de la fraction glucidique, des microbes sont variables selon les modèles. Les modèles permettant de prédire les productions d'acides gras volatils utilisent tous des approches empiriques, le plus souvent basées sur les coefficients stoechiométriques proposés par Murphy et al. (1982).

Les études comparatives "qualitatives" (Sauvant, 1988; Sauvant et al., 1995a; Dijkstra et France, 1996; Sauvant, 1997b) constituent une première étape indispensable pour aider au développement de nouveaux modèles. Elles permettent de souligner les différentes approches utilisées et utilisables en modélisation. Les points communs et les différences entre les modèles peuvent ainsi être dégagés. Cependant, seules les comparaisons "quantitatives", c'est à dire effectuées à partir de données expérimentales sélectionnées pour leur qualité, permettent de valider ou non les simulations. La prise en compte, dans un modèle, d'un phénomène observé expérimentalement ne se justifie que dans la mesure où il est possible de représenter correctement ce phénomène et qu'il en découle une amélioration du résultat obtenu.

Tableau 1
Synthèse comparative de six modèles du rumen

	①	②	③	④	⑤	⑥
Auteurs	Baldwin R.L. Lucas H.L. Cabrera R.	Baldwin R.L. Thornley J.H.M. Beever D.E.	Sniffen C.J. O'Connor J.D. van Soest P.J. Fox D.G. Russell J.B.	Dijkstra J.	Lescoat P. Sauvant D.	Petruzzi H. Danfær A. Nørgaard P.
Année de publication	1970	1987 - ... actualisation régulière	1992 - ... actualisation régulière	1992 - 1994	1995	2002
Références	Physiology of digestion and metabolism in the ruminant (Phillipson A.T. ed), 319-335	J. Dairy Res. 54, 107-131	J. Anim. Sci. 70,3551-3561 J. Anim. Sci. 70,3562-3577	J. Nutr. 122, 2239-2256 Br. J. Nutr. 72, 679-699	Reprod. Nutr. Dev. 35, 45-70	J. Anim. Feed Sci. 11, 367-397
Quelques spécificités...	- 1 ^{er} modèle mathématique du rumen - basé sur 45 équations stœchiométriques - distingue 3 populations microbiennes	- modèle, très complet, appliqué à la vache laitière (fait partie d'un modèle plus général incluant le métabolisme)	- modèle "statique", qui ne dépend pas du temps - intègre une grande diversité de conditions environnementales, de conduite de troupeaux et d'aliments	- intègre la dynamique des microorganismes du rumen	- intègre l'apport en certains acides aminés essentiels - utilise de nouvelles approches, notamment pour évaluer la MSI ^a , le transit des particules, le profil en AGV ^a et le pH	- modèle axé sur la dynamique des particules et la digestion des fibres
Nombre total de variables d'état	21	12	23 ^b	19	22	18
Populations microbiennes distinguées	3	2	2	3	2	1

^a MSI: matière sèche ingérée, AGV: acides gras volatils

^b Le terme "variables d'état" ne convient pas dans ce modèle car il s'agit d'un modèle statique, il est préférable d'utiliser le terme "variables d'intérêt"

	①	②	③	④	⑤	⑥
Caractéristiques des fractions alimentaires						
Protéines	1	2	5	3	4	5
Acides Aminés	-	18	9	-	8	-
Glucides	4	4	4	5	6	10
Lipides	-	1	1	1	-	1
Matières minérales	-	2	1	-	-	-
Cinétique de dégradation	Loi d'action de masse cinétique du 1 ^{er} ordre	Cinétique de Michaelis Menten	Loi d'action de masse cinétique du 1 ^{er} ordre	Cinétique de Michaelis Menten	Loi d'action de masse cinétique du 1 ^{er} ordre	Loi d'action de masse cinétique du 1 ^{er} ordre
Dégradation des...						
protéines						
Influence de la bM ^b	Ø	×	×	×	Ø	Ø
Recyclage de l'azote	×	×	×	×	Ø	×
fibres						
Fraction indigestible	Ø	lignine (ADL)	2,4 × ADL	<i>in sacco</i>	<i>in sacco</i>	<i>in vitro</i> ou <i>in sacco</i>
Influence de la bM ^b	Ø	×	Ø	×	Ø	Ø
Influence du pH	Ø	×	×	×	×	Ø (influence du % glucide rapidement dégradable)
amidon						
Influence de la bM ^b	Ø	×	Ø	×	Ø	Ø
lipides	Ø	utilisés par les microorganismes	pas utilisés par les microorganismes	utilisés par les protozoaires	Ø	utilisés par les microorganismes

^b La dégradation varie selon l'importance de la biomasse microbienne (bM)

	①	②	③	④	⑤	⑥
Dynamique des particules	2 compartiments	2 compartiments	∅	∅	∅	2 compartiments
Rumination	Baldwin et al., 1970	Murphy et al., 1983	∅	∅	∅	Illiis et Gordon, 1991
Transit des particules variable selon...	- Phase alimentaire - Phase microbienne	- Petites particules - Phase liquide	- Fourrage - Concentré - Phase liquide	- Phase solide - Phase liquide - Protozoaires	- Fourrage - Concentré - Phase liquide	- Grosses particules - Petites particules - Phase microbienne - Phase liquide
Paramètres influents ^c	∅	∅	MSI, PV, F et ajustement selon la taille des particules avec eNDF	∅	MSI, PV, F	MSI, PV, NDFI
Populations microbiennes	A - Cellulolytique B - Amylolytique C - <i>Bact. ruminicola</i>	A - Cellulolytique B - Amylolytique	A - Cellulolytique B - Amylolytique	A - Bact cellulolytique B - Bact amylolytique C - Protozoaire	A - Phase liquide, libre B - Phase solide, attaché	A
Composition (%MS)	Constante	Constante	Constante	Teneur en glucide variable	Teneur en acides aminés variable	Constante
Protéines	60	57,2	37,5	53	variable	51
Acides nucléiques	20	9,5	9	15,8		0
Glucides	10	21,2	36,6	variable		23,2
Fibre		0	15,6	4,2		9,5
Amidon		21,2	21	variable		13,7
Lipides	10	12,1	12	14,3		10,8
Matières minérales	0	0	4,4	12,9	10	15
Besoin d'entretien Km, mmol ATP/ g bact./ h	∅	1,6	(A) 1,6 (B) 5,1	(A, B) fonction de la disponibilité en N (C) 2,2	1,6	∅

^c MSI: matière sèche ingérée, PV: poids vif, F: proportion de fourrage, NDFI: NDF ingéré, eNDF: NDF effectif

	①	②	③	④	⑤	⑥
Croissance	établie à partir des ATP produits lors des fermentations	établie à partir des ATP produits lors des fermentations	proportionnelle au taux de dégradation des glucides	établie à partir des ATP produits lors des fermentations	établie à partir des ATP produits lors des fermentations	calculée en fonction du taux de dégradation des glucides et de la MSI
Disponibilité en azote = facteur limitant	Ø	×	×	En partie	Ø	×
Acides gras volatils			(Pitt et al. 1996)			
Nombre	3	3	4	4	4	Ø
Profil	Baldwin et al., 1970	Murphy et al., 1982	Strobel et Russell, 1986	Murphy et al., 1982	Lescoat et Sauvart, 1994	Ø
Absorption	Fixe	Fixe	Variable	Variable	Variable	Ø
influencée par:	Ø	Ø	[AGV], A ⁻ /AH, surface de l'épithélium ruminal	AGV, [AGV], pH, volume ruminal	AGV, [AGV]	Ø
Calcul de...						
MSI	Ø	Ø	×	Ø	×	Ø
Volume du rumen	Ø	×	×	×	×	Ø
pH	Ø	×	×	Ø	×	Ø
Programme informatique	Fortran	Fortran (ACSL)	-	ACSL	Dynamo	Powersim
Intégration numérique	Euler (1 ^{er} ordre)	Runge Kutta (4 ^{ème} ordre)	-	Runge Kutta (4 ^{ème} ordre)	Euler (1 ^{er} ordre)	Runge Kutta (4 ^{ème} ordre)
Temps de simulation	-	1 j.	-	30 j.	6 j.	10 j.
Pas de temps	-	0,12 h.	-	0,24 h.	1 h.	0,05 h.

	①	②	③	④	⑤	⑥
Etude de sensibilité du modèle	Ø	- taille des particules - fraction d'amidon soluble - constante de vitesse et d'affinité pour la dégradation des AA - taux de passage	- NDF, protéines, AA^d et eNDF des aliments - taux de dégradation du NDF et de l'amidon - composition des microbes en AA - pH ruminal - volume ruminal - taux de passage des liquides	- disponibilité en hexose pour les microbes - réserve max. en amidon des microbes amylolytiques - besoin d'entretien, taux de captation des bactéries et taux de mortalité des protozoaires	- formation d'ATP par les substrats fermentés - besoin d'entretien, efficacité d'utilisation de l'ATP et teneur en protéines des microbes - coefficient d'absorption des AGV - taux de passage	- taux de dégradation du NDF - taux de passage
Etude de validation externe Prédictions insatisfaisantes	Ø	- MSI^d - protéosynthèse microbienne - profil AGV - influence pH sur activité microbienne	- MSI^d - pH ruminal	- profil AGV - turn-over des protozoaires	- digestibilité apparente de la MO^d - profil AGV - efficacité de la croissance microbienne	- digestibilité en amidon et MO^d - partition du flux protéique (passage / microbes)
Quelques faiblesses...	- tous les substrats sont supposés totalement digestibles - peu d'intégration des phénomènes de transit	- définition de la taille des particules peu claire	- définition des fractions protéiques et glucidiques inadéquate	- peu de données quantitatives sur les protozoaires	- l'azote n'est pas limitant pour les microbes - les lipides et les minéraux ne sont pas intégrés	- le modèle n'a pas comme objectif de prédire les AGV formés

^d AA: acides aminés, MSI: matière sèche ingérée, MO: matière organique

3. Comparaison des modèles à partir de données expérimentales

3.1. Développement de bases de données et méta-analyse

La comparaison des modèles à partir de données expérimentales a été possible grâce à la construction de bases de données fournissant à la fois les entrées (inputs) et les résultats (outputs) expérimentaux. La figure 4 schématise la démarche utilisée pour comparer et valider les modèles.

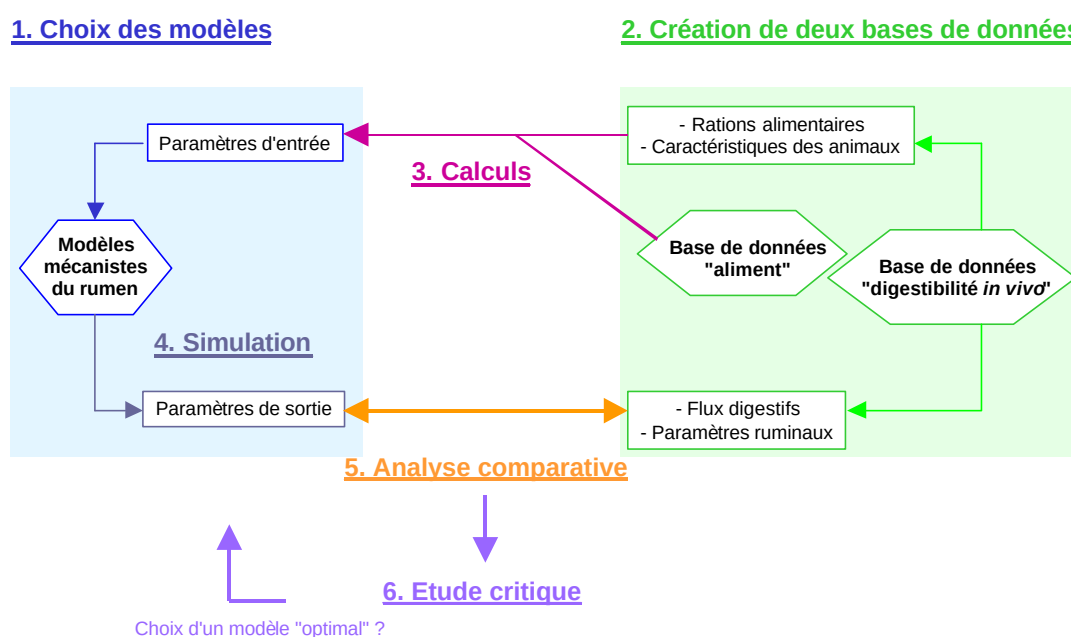


Fig. 4. Etapes de la démarche appliquée pour comparer les modèles du rumen.

Le développement et l'analyse de bases de données sont des outils importants qui permettent notamment de dégager des lois de réponses générales. Plusieurs bases de données ont été développées pour notre étude. La grande majorité des informations provient d'essais publiés dans des revues scientifiques.

- Base de données "aliment"

Nous avons développé cette base de données pour fournir les principaux paramètres d'entrée des modèles concernant les aliments: composition chimique détaillée, dégradabilité des protéines, des fibres et de l'amidon. La base est disponible sous Excel et elle comprend environ 70 ingrédients ayant subis ou non des traitements technologiques. Il s'agit en fait d'une synthèse issue principalement de la banque de données de l'alimentation animale de l'Association Française de Zootechnie (gérée par G. Tran). Compte tenu du peu de données

disponibles sur la dégradabilité théorique de l'amidon, nous avons développé une base spécifique sur cet aspect.

- Base de données "dégradabilité de l'amidon in sacco"

Nous avons d'abord développé cette base de données pour fournir des paramètres actualisés sur la dégradabilité de l'amidon (partie II). Ces paramètres peuvent être utilisés comme paramètres d'entrée dans les modèles du rumen (Lescoat et Sauvant, 1995). La base de données comporte 48 références et 302 observations provenant d'expériences mesurant la dégradabilité théorique (DT) de l'amidon à partir d'incubations de sachets de nylon dans le rumen. L'équation d'Ørskov et McDonald (1979) a servi pour décrire les cinétiques de dégradation de l'amidon. La liste des références de la base est présentée en annexe 3. Cette base a été utilisée pour compléter les tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage INRA - AFZ (Sauvant et al., 2002).

- Base de données "digestibilité ruminale in vivo"

Cette base de données comprend 87 références et 316 observations. Les expériences de digestibilité ont été conduites *in vivo* sur vaches laitières ou sur vaches allaitantes. La digestibilité ruminale était déterminée grâce à des animaux canulés du duodénum. Cette base a été extraite d'une base plus large, construite par Sauvant et Mertens (communication personnelle); des références manquantes portant sur la digestibilité de l'amidon au niveau du rumen y ont été ajoutées de manière à disposer d'une base plus "exhaustive" sur cet aspect. Une partie de cette base a servi de base de données expérimentales afin de valider les modèles du rumen. 47 références (194 observations) ont en effet été sélectionnées. Elles comportent le maximum d'information disponible concernant les animaux (uniquement des vaches laitières), le régime et les réponses de l'animal (digestibilité des nutriments, production d'AGV, pH ruminal...).

- Méta-analyse

L'objectif de la méta-analyse (Glass, 1976) est de compiler des résultats provenant d'études indépendantes. En combinant ces résultats, il est possible d'augmenter la puissance des tests et d'obtenir une estimation beaucoup plus précise du sens et de la grandeur d'un effet (Pignon et Poynard, 1991). La méta-analyse peut par exemple permettre de dégager un effet lorsque celui ci est trop faible pour être clairement soutenu par les essais pris individuellement (St-Pierre, 2001). Néanmoins, les analyses quantitatives font face à de s difficultés liées à la structure des bases de données: plans d'expériences déséquilibrés, données manquantes. Ces analyses restent aussi l'objet de nombreuses controverses,

particulièrement lorsqu'il existe une forte hétérogénéité qualitative entre les essais (Thompson et Pocock, 1991). Les analyses avec seulement une ou deux variables explicatives ont été favorisées. Différentes méthodes statistiques ont été utilisées: l'analyse globale et l'analyse intra-essai. Cette dernière se rapproche *a priori* davantage des lois générales recherchées (St-Pierre, 2001). L'effet "essai" est alors pris en compte comme variable discrète explicative. Le choix entre un effet "essai" fixe ou aléatoire est également au cœur des débats (St-Pierre, 2001). L'utilisation d'un effet fixe est préconisée lorsque les essais sont "choisis" par l'expérimentateur. Dans ce cas, les variations entre les essais de la base de données doivent être représentatives des variations observées dans la population (exhaustivité), le but est surtout de "classer" les modalités. L'effet aléatoire correspond plutôt à des essais tirés de façon aléatoire au sein d'une population. L'effet aléatoire sert plutôt au contrôle de la variabilité, on le considère comme représentatif de l'ensemble de la population d'où il a été tiré. Dans notre cas, l'étude avec effet fixe a été privilégiée, mais la distinction entre les deux représentations était négligeable à partir de nos résultats.

La pondération des données est parfois envisagée pour tenir compte de la précision associée à chaque essai (nombre d'individus, variabilité). Cependant, aucune pondération n'a été intégrée dans notre étude. Il semble en effet que la pondération par le degré de précision des expériences n'a que peu d'influence sur les résultats de ce type de méta-analyse. Les données ont été analysées grâce à des analyses de covariance en utilisant des modèles linéaires généralisés sous SAS version 6.12 ou avec Minitab version 12.2.

3.2. Comparative evaluation of the Molly, CNCPS and LES rumen models

*Article accepté pour publication dans **Animal Feed Science and Technology** pour un numéro spécial "Mathematical modelling of animal-plant interactions in livestock enterprises"*

Comparative evaluation of the Molly, CNCPS and LES rumen models

Anne Offner, Daniel Sauvant *

UMR Physiologie de la Nutrition et Alimentation, Institut National de la Recherche Agronomique, 16 rue Claude Bernard, 75231 Paris Cedex 05, France

* Corresponding author. Tel.: +33-144-081-762; fax: +33-144-081-853.

E-mail address: sauvant@inapg.inra.fr (D. Sauvant).

Abstract

This study was conducted to evaluate and compare three rumen models with observed experimental data covering a wide range of feeding situations. Molly, developed by Baldwin since 1987, the Cornell Net Carbohydrate and Protein System, developed since 1992, and the model developed by Lescoat and Sauvant in 1995 were evaluated. These mechanistic models were compared on their ability to predict various rumen parameters and digestive characteristics. A database of 47 references (194 treatments) was built with animal characteristics, detailed rations and *in vivo* measurements on dairy cattle. A feedstuff library with all input parameters needed to evaluate the models was created for 73 feedstuffs. Thus, the comparative simulations were based on identical and consistent feed inputs. Global regressions and general linear models within experiments were used to determine the ability of the models to predict global and within experiment variation. Evaluations involved four parameters: coefficient of determination, residual standard deviation, slope of the regression and mean deviation to the bisector ($Y = X$). Results underlined the fairly good capacity of the model of Lescoat and Sauvant to predict starch digestion in the rumen, with a residual standard deviation of 0.06 kg/kg starch and slope of 0.70. The duodenal flow of microbial N was best predicted by the Cornell Net Carbohydrate and Protein System with a residual standard deviation of 28.6 g/d and slope of 0.91. Rumen pH was best predicted by the model of Lescoat and Sauvant with a residual standard deviation of 0.10 and slope of 0.90. Alternatively, the models did not accurately predict fiber digestion in the rumen or volatile fatty acids concentrations. The study demonstrates the strengths and weaknesses of the models. Future improvements of rumen modeling can be considered by pooling the advantages of each model.

Keywords: rumen; model; model evaluation;

Abbreviations:

AA, amino acid; BNRFOM, efficiency of microbial growth; CP, crude protein; DM, dry matter; eNDF, effective NDF; LES, model developed by Lescoat and Sauvant (1995); LW, live weight; MIN, duodenal flux of microbial N; MOL, Molly, model developed by Baldwin et al. (1987); NDF, neutral detergent fiber; Rd, digestibility in the rumen; TTd, digestibility in the total tract.

1. Introduction

The rumen is a key organ in ruminant nutrition. Indeed, the rumen microbes, while participating in the digestion process through fermentation, play a major role in supply of nutrients to intermediary metabolism. The ration fed to the ruminant can also dramatically affect the rumen environment (e.g., acidosis). As a consequence, predicting ruminal responses to diets are a prerequisite to predicting whole animal responses. Research on the understanding of rumen function has led to thousands of scientific publications. Mathematical modeling is a helpful tool to describe the complexity of the rumen, to integrate data, to better predict multiple responses of the rumen to diets and to optimize the nutritional value of diets.

Several rumen models have been developed, particularly those by Baldwin et al. (1977), Sniffen et al. (1992), Dijkstra et al. (1992) and Lescoat and Sauvant (1995). These models can be characterized depending on their time dependency (i.e., dynamic or non-dynamic) and on their way of integrating data (i.e., mechanistic or empirical). The comparison of the representations of rumen function in the different models of Sauvant (1988), Dijkstra and France (1995), and Sauvant (1997) demonstrated differences that were dependent on model objectives and structure. Comparative evaluations of the models, by simulating ruminal processes for different diets, have already been completed (Ramangasoavina and Sauvant, 1993; Kohn et al., 1995; Bannink et al., 1997ab). However, these researchers encountered difficulties in estimating the various input parameters, and so these approaches remained limited to small data sets, particularly for the two last ones ($n = 49$, 20 and 7, respectively). The systematic comparison of models can provide useful information, and avoid wasting time on developing new ones, if reliable models can be shown to already exist.

The objective of the study was to evaluate and compare three rumen models on the same set of observations covering a wide range of feeding situations. Three mechanistic rumen models were compared on their ability to predict various rumen parameters such as pH, volatile fatty acids (VFA) and digestive characteristics.

2. Materials and methods

2.1. Rumen Models

Baldwin et al. (1970) was among the first to develop a complete rumen model. Later, Russell et al. (1992), Sniffen et al. (1992) and Fox et al. (1992) developed the Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS). Other rumen models were also proposed by Dijkstra et al. (1992) and Lescoat and Sauvant (1995). All these models simulated digestion, absorption and nutrient flow out of the rumen. Production and metabolism of the cow were based on physiological processes, and could be predicted based upon a knowledge of the

nutrients fed to the cow. The models shared common principles, and were all based on a mechanistic approach. While they were developed for research, they could help in diet formulation, particularly to reduce nutrient excretion and improve animal performance and product quality.

Molly (MOL), developed by Baldwin et al. (1987), was a dynamic model claimed as specific to lactating cows (Molly, 1999). The CNCPS was not based on dynamic differential equations, but had the advantage of including various environmental and management conditions, as well as feeds (Fox et al., 2000). The model of Dijkstra et al. (1992) could have been interesting because it focused more on microbial dynamics. Unfortunately, the computer program corresponding to the model was not at our disposal. Lescoat and Sauvant (1995) proposed a dynamic model (LES), with new aspects for the prediction of duodenal amino acids (AA) flux and VFA production. These three different rumen models (MOL, CNCPS, LES) were compared with the same set of experimental data. The models were run in their own environment and over short-terms (i.e., 48 to 72 h).

2.2. Description of the database

To complete this comparative study, an independent dataset with data on animal characteristics, detailed rations and *in vivo* measurements was built. The database contained 47 references (Table 1) and 194 treatments on dairy cattle and was used as a comparison and validation tool. Animals were lactating dairy cows producing 9.3 to 43.1 kg milk/d (29.3 ± 6.1), and observations covered a wide range of feeding situations. The level of dry matter (DM) intake ranged between 11.5 and 26.8 kg/d., and the percentage of concentrate ranged between 6 and 78% of DM ($48 \pm 15\%$ of DM). Starch content ranged from 0.4 to 54.7% of DM ($29.0 \pm 10.0\%$ of DM) and dietary neutral detergent fiber (NDF) ranged from 19.5 to 61.7% of DM ($34.5 \pm 6.1\%$ of DM). The main characteristics of the database are in Table 2, as well as the parameters used for the model comparison. These parameters included rumen microbial characteristics, nutrient digestibilities, VFA concentrations and pH.

The database pooled 150 treatments (40 references) that all reported NDF digestibility in the whole tract (TTd NDF) although only 43 treatments also reported NDF digestibility in the rumen (Rd NDF). Therefore, Rd NDF was extrapolated to the 107 remaining treatments using the following relationship, determined from the 90 documented observations ($r^2 = 0.75$, $rsd = 0.072$ kg/kg NDF): $Rd\ NDF = 0.94 \times TTd\ NDF - 0.011$. NDF digestibility in the whole tract ranged from 0.26 to 0.84 kg/kg NDF (average 0.51 ± 0.119), and NDF digestibility in the rumen ranged from 0.11 to 0.78 kg/kg NDF (average 0.47 ± 0.116).

Table 1

List of references used in the comparison database and experimental parameters

	Rd Starch	Rd NDF	Microbial N	BNRFOM	VFA	pH
Avila et al., 2000	x	x	x	x	x	x
Aydin et al., 1999		x			x	x
Beauchemin, 1991					x	x
Beauchemin and Buchanan-Smith, 1990		x			x	x
Beauchemin et al., 1991					x	x
Beauchemin et al., 1994						x
Bosch, 1991		x			x	x
Cameron et al., 1991	x	x	x	x	x	x
Chan et al., 1997	x	x	x	x	x	x
Christensen et al., 1993	x	x	x	x	x	x
Christensen et al., 1998	x	x	x	x	x	x
De Visser et al., 1998		x				
Doreau and Rémond, 1982	x					
Doreau et al., 1990	x				x	x
Doreau et al., 1993		x	x	x	x	x
Espindola et al., 1997	x	x	x	x	x	x
Fischer et al., 1994					x	x
Grant et al., 1994		x			x	x
Herrera-Saldana et al., 1990	x	x	x	x		x
Joy et al., 1997	x	x	x	x	x	x
Klusmeyer et al., 1990	x	x	x	x	x	x
Knowlton et al., 1998	x	x	x	x	x	x
Le Liboux and Peyraud, 1998	x	x	x	x	x	x
Le Liboux and Peyraud, 1999	x	x	x	x	x	x
Llamas-Lamas and Combs, 1990		x			x	x
Lykos et al., 1997	x	x	x	x	x	x
McCarthy et al., 1989	x	x	x	x	x	x
Oba and Allen, 2000ab	x		x	x	x	x
Oliveira et al., 1995	x	x	x	x		
Overton et al., 1995	x	x	x	x	x	x
Pantoja et al., 1994		x	x	x	x	x
Pereira and Armentano, 2000		x			x	x
Peyraud et al., 1997	x	x	x	x	x	x
Poore et al., 1993	x	x	x	x	x	
Santos et al., 1999	x	x				
Shabi et al., 1999	x	x	x	x	x	x
Shaver et al., 1986		x			x	x
Shaver et al., 1988		x				
Stensig and Robinson, 1997	x	x	x	x	x	x
Stokes et al., 1991	x		x	x	x	x
Teller et al., 1992		x	x	x	x	x
van Vuuren et al., 1993	x	x	x	x	x	x
Widyobroto, 1992a	x	x	x	x	x	x
Widyobroto, 1992b						
Yang et al., 1997	x	x	x	x	x	x
Yang et al., 1999	x	x	x	x	x	x
Yang et al., 2000	x	x	x		x	x

Table 2

Main characteristics of the comparison database

	n _{treatments}	n _{references}	mean	sd ^a	min.	max.
ANIMAL PERFORMANCE						
LW, kg	194	48	620	47	488	710
DM intake, kg/d	194	48	21.2	2.9	11.5	26.8
Milk yield, kg/d	191	47	29.3	6.1	9.3	43.1
Milk fat content, %	175	43	3.52	0.46	2.25	4.60
DIET COMPOSITION						
Forage, %	194	48	51.8	14.8	22.0	94.0
Crude protein, %DM	190	47	17.3	2.2	10.9	24.2
Starch, %DM	121	34	29.0	10.0	0.4	54.7
NDF, %DM	190	47	34.5	6.1	19.5	61.7
STUDIED PARAMETERS						
Microbial characteristics						
Duodenal flux of microbial N, g/d	115	32	324	94	148	575
BNRFOM ^b , g N/kg OM	111	31	29.6	8.0	12.6	51.6
Digestibility						
Rd ^c Starch, kg/kg starch	112	32	0.648	0.163	0.272	0.967
Rd ^c NDF, kg/kg NDF	43	13	0.473	0.127	0.114	0.746
TTd ^d NDF, kg/kg NDF	150	40	0.508	0.119	0.257	0.840
Rumen fermentation						
VFA, mM	156	41	112.2	17.3	57.2	150.5
Acetate / Propionate	154	40	2.84	0.71	1.34	4.83
pH	167	42	6.1	0.3	5.5	6.7

^a standard deviation^b amount of bacterial N per OM truly fermented in the rumen^c ruminal digestibility, Rd^d total tract digestibility, TTd

2.3. Model inputs

A feedstuffs database containing all the parameters needed to evaluate the models was created for the 73 feedstuffs from the previous references. The aim was to run the comparative simulations from identical and consistent feed inputs. Table 3 reports all feed components needed to run the three models that were entered in the database. Values for the chemical composition of the feeds were mostly from IO-7 (2002), which is the French data bank for animal feeds. Starch content was based on Offner et al. (2003). The AA composition of the feeds was an input to the models, even though the AA were not specifically used in the comparative evaluation. The AA composition of forages were from Schwab et al. (1976), Greife et al. (1985), Cunningham et al. (1994), Van Straalen et al. (1997), and Rulquin (*unpublished*).

Table 3

Feed components needed to run the three models

	LES	MOL	CNCPS
<u>Chemical composition</u>			
DM	×	×	×
Ash	×	×	×
soluble ash		×	
Fat	×	×	×
Crude protein (CP)	×	×	×
soluble CP	×	×	×
UIP ^a			×
NDFIP ^b			×
ADFIP ^c			×
Starch	×	×	% NSC ^d
Sugar	×	×	
NDF ^e	×	×	×
effective NDF			×
ADF ^f	×	×	
Lignin	×	×	×
Pectin		×	
Organic acids		×	
Non-protein N	×	×	% sol. CP
Urea		×	
Amino acids (18 AA)	×	×	% UIP ^a
Minerals and vitamins			×
Metabolisable Energy		×	
Particle Size Factor		×	
<u>Ruminal degradability</u>			
Non Structural Carbohydrate	<i>in situ</i> parameters ⁱ : a, b, c and k _d	% soluble starch	CA/CB1 ^g
Structural Carbohydrate			CB2/CC ^g
Protein		% soluble CP	PB1/PB2/PB3 ^h

^a Undegraded Intake Protein, UIP % CP^b Neutral Detergent Insoluble Protein, NDFIP % CP^c Acid Detergent Insoluble Protein, ADFIP % CP^d Non Structural Carbohydrate, NSC^e Neutral Detergent Fiber, NDF % DM^f Acid Detergent Fiber, ADF % DM^g CA: sugar, CB1: starch, CB2: available fiber, CC: unavailable fiber^h PB1: rapidly degraded protein, PB2: intermediately degraded protein, PB3: slowly degraded proteinⁱ *in situ* parameters: a: soluble fraction, b: degradable fraction, c: undegradable fraction and k_d: rate of degradation of fraction b

The database also contained values for the *in situ* degradability of the feeds. The parameters 'a', 'b' and 'c', respectively, represented the fraction disappearing immediately, the fraction potentially degradable and the fractional degradation rate of 'b' (Ørskov and McDonald, 1979). Values for ruminal NDF and crude protein (CP) degradability came from Chapoutot (1998) for concentrates, various references were used for forage (Nocek and

Grant, 1987; Janicki and Stallings, 1988; Kung et al., 1989; Vogel et al., 1989; Leventini et al., 1990; Makoni et al., 1991; Wattiaux et al., 1991; Michalet-Doreau and Ould-Bah, 1992; Petit and Tremblay, 1992; Hoffman et al., 1999; Coblenz et al., 2000), and values for starch degradability came from Offner et al. (2003). It was assumed that there was no undegradable starch fraction (i.e., $a + b = 1$) and no soluble fiber fraction (i.e., $a = 0$).

The settings for model simulations were changed in concert with the specific diets used. For instance, MOL simulations were set to 'forset', 'mixset' or 'conset' according to the proportion of forage in the diet. In this model, degradation rates for hemicellulose and cellulose were also changed according to forage source (i.e., legume, grass or corn silage).

For some very specific values corresponding to the grayed cells in Table 3, the feedstuffs libraries provided with MOL and CNCPS models were used. Indeed, some values in these model databases that were determined by us with specific methods were substantially different from the model feed database values. For example, the particle size factor used by MOL, corresponding to the percentage of small particles that pass through a 3 mm screen, was compared to observations from a database on feed particle size containing 284 treatments pooled from the literature (Sauvant, *unpublished*), and no relation was observed between values in the MOL feed library and the results of this database. The CNCPS model also used some specific feed characteristics. Feed protein was divided into five fractions: PA, PB1, PB2, PB3 and PC. The PA fraction, representing nonprotein N, was determined as the proportion of CP that is not precipitated by trichloroacetic acid and that is soluble in borate-phosphate buffer (Licitra et al., 1996). This last condition is not commonly used to determine nonprotein N. Feed carbohydrates were also divided into four fractions: CA, CB1, CB2 and CC. This approach was evaluated for 15 currently used feedstuffs. Values for the CA fraction, representing sugars and organic acids, were positively related ($r^2 = 0.43$), but were only about 20% of the soluble starch value (Offner et al., 2003). Values for the CB1 fraction, representing starch and pectin, were positively, but poorly, related ($r^2 = 0.67$) to the starch fraction. This could be due to poor estimation of nonstructural carbohydrate, which was calculated by difference as: $1 - [\text{protein} + (\text{NDF} - \text{NDFprotein}) + \text{fat} + \text{ash}]$. The fractional degradation rates used in the CNCPS were based on *in vitro* gas production measurements or *in situ* techniques (Sniffen et al., 1992), although no relationship occurred between the degradation rates of the CB1 fraction and *in situ* starch degradation rates (Offner et al., 2003). Starch degradabilities, calculated with the CNCPS were related ($r^2 = 0.54$) to *in situ* degradabilities, but differed up to 30%. In the same way, no relationship was observed between degradation rates of the CB2 fraction and *in situ* NDF degradation rates. The definitions of the feed fractions, and degradation rates, in the CNCPS are very specific.

Model inputs dealing with animal characteristics, animal performance and management are in Table 4. These inputs were also included in the database when the

information was available. In other cases, and for other parameters, the default conditions of the models were used, and DM intake was considered to be a model input. The three models were based on the assumption of continuous feeding, although feeding frequency could be used in CNCPS.

Table 4

Animal and management characteristics needed to run the models

	LES	MOL	CNCPS
<u>Animal characteristics</u>			
Breed			×
LW, kg	×	×	×
Body condition score		×	×
DM intake, kg/d	×	×	×
<u>Animal performance</u>			
Milk yield, kg/d	×		×
Milk fat content, %			×
Milk protein content, %			×
Days in milk, d		×	×
<u>Management</u>			
Feeding frequency, /d			×
Milking frequency, /d		×	×

2.4. Statistical analyses

Models simulations were compared to experimental values in the database. Global regressions were first conducted to determine the tendency (i.e., underestimation, overestimation) exhibited by the models: $Y_{obs_i} = a + b Y_{sim_i} + e_i$, where 'a' was the intercept, 'b' the slope and 'e_i' the residual. Observations within a given experiment are generally more closely linked, and closer to a general relationship, than observations among experiments (St-Pierre, 2001). Therefore, general linear models within experiments were also completed as: $Y_{obs_{ij}} = \mu + \alpha_i + b_j Y_{sim_{ij}} + e_{ij}$, where ' α_i ' was the experiment effect, ' b_j ' the slope and 'e_{ij}' the residual. This statistical analysis helped to determine the ability of the models to predict among and within experiment variation. No weighting method was applied in these analyses. For both analyses, four parameters were used to estimate prediction accuracy: the coefficient of determination (r^2), the residual standard deviation (rsd), the slope (b or b) of the regression and the mean deviation (d) to the bisector ($Y = X$). This last parameter was calculated by difference between the experimental and the simulated means as: $d = b + (a - 1) \times \overline{Y_{obs}}$

3. Results

Results of the statistical analyses comparing experimental and simulated outputs for the three models (CNCPS, LES, MOL) are summarized in Table 5. For each output, the best prediction was noted with a grayed cell.

Table 5

Global and "within experiments" analyses of the prediction of various outputs by the three models

		Rd Starch ^b kg/kg starch	Rd NDF ^b kg/kg NDF	Microbial N g/d	BNRFOM ^a g N/kg OM	VFA mm	Acetate / Propionate	pH
	Experimental mean	0.65	0.47	323.9	29.6	112.2	2.84	6.07
LES	Simulated mean	0.68	0.30	316.4	37.6	106.2	2.61	6.14
	d^c	-0.03	0.17	7.5	-8.0	6.0	0.23	-0.07
	r^2^d	0.23	0.17	0.12		0.06	0.27	0.31
	Global rsd^e	0.143	0.106	88.8	NS	16.9	0.61	0.22
	b^f	0.60	1.44	0.68		0.36	0.73	0.92
	r^2^d	0.90		0.92		0.83	0.80	0.90
	Within rsd^e	0.060	NS	31.0	NS	8.2	0.37	0.10
	b^f	0.70		0.78		0.33	0.54	0.90
MOL	Simulated mean	0.71	0.52	260.6	20.4	64.6	2.31	6.22
	d^c	-0.06	-0.06	63.3	9.2	47.5	0.53	-0.15
	r^2^d		0.17	0.12		0.04	0.14	
	Global rsd^e	NS	0.106	88.9	NS	17.0	0.66	NS
	b^f		0.55	0.89		-0.31	0.70	
	r^2^d	0.79	0.91	0.90			0.80	0.84
	Within rsd^e	0.089	0.041	35.3	NS	NS	0.37	0.13
	b^f	1.21	0.26	0.33			0.80	0.42
CNCPS	Simulated mean	0.76	0.35	323.9	22.5	-	-	6.36
	d^c	-0.11	0.12	-0.05	7.1	-	-	-0.29
	r^2^d	0.22	0.11	0.21				0.04
	Global rsd^e	0.144	0.110	84.5	NS	-	-	0.26
	b^f	0.91	0.65	0.70				0.33
	r^2^d	0.89	0.90	0.93	0.92			0.84
	Within rsd^e	0.064	0.042	28.6	2.62	-	-	0.12
	b^f	1.23	0.40	0.91	0.95			0.73

^a amount of bacterial N per OM truly fermented in the rumen

^b ruminal digestibility, Rd

^c mean deviation to the bisector, d

^d coefficient of determination, r^2

^e residual standard deviation, rsd

^f slope, b

3.1 Prediction of digestion in the rumen

3.1.1. Prediction of starch digestion

Representation of starch digestion in the models

Starch was generally represented by two state variables, being the soluble and degradable fractions. Some differences were observed in transit modeling. The passage rate could be constant (MOL) or related to DM intake, forage or live weight (LW) in the CNCPS and LES. Starch degradation could be predicted from first order kinetic models (CNCPS, LES) or from Michaelis Menten kinetics influenced by microbial mass (MOL). MOL used soluble starch fraction as an input, and the degradation rate of the degradable fraction could be set as an input, if known. CNCPS used several carbohydrate fractions with different degradation rates. But only one fraction corresponded to starch (CB1). The associated degradation rates were variable, depending on the type of grain and the type of processing. The degradation rates of fraction CB1 ranged between 0.08 and 0.70 /h whereas the *in situ* degradation rates used in LES ranged between 0.03 and 0.40 /h. Moreover, the three models assumed a fixed starch content in microbes (about 21% of DM), even though the microbial storage of starch is highly variable (i.e., 10 to 40% of DM). In some cases, microbial starch can greatly contribute to the duodenal flux of starch, as up to 40% of duodenal starch can be of microbial origin.

Model evaluation on the prediction of starch digestion

Model predictions of starch digestibility in the rumen (Rd starch, kg/kg starch) were compared for 112 treatments from 32 references. Results of the global regression between experimental and simulated values are reported first. Values for residual standard deviations (*rsd*) were, respectively, of 0.143 kg/kg starch for LES and 0.144 kg/kg starch for CNCPS. The slope of the regression was of 0.60 for LES and 0.91 for CNCPS. The regression with MOL was not significant ($rsd = 0.162$, $r^2 = 0.02$, $b = 0.30$). Values for *d* showed that starch digestibility tended to be overpredicted by the models, particularly by CNCPS where Rd starch (CNCPS) = 0.763 ± 0.084 kg/kg starch. This prediction is not consistent with Bannink (1997b), who noted the underestimation of Rd starch by MOL, although they only used 7 treatments. Within experiment statistical analyses greatly improved values for *rsd*, which were, respectively, 0.060 kg/kg starch for LES, 0.064 kg/kg starch for CNCPS, and 0.089 kg/kg starch for MOL. Variations in starch digestibility were poorly predicted with MOL, but predictions with LES and CNCPS were satisfactory. LES, which is based on *in situ* values, was the most accurate model at predicting starch digestion (Fig. 1). CNCPS was also not bad, although some deviations occurred, especially in the case of diets containing slowly degraded starches. CNCPS tended to overestimate starch digestion, and this could be due to the value for the degradation rate of the CB1 fraction, which was set between 0.1 and 0.3 /h for corn grain as suggested by Fox et al. (2000).

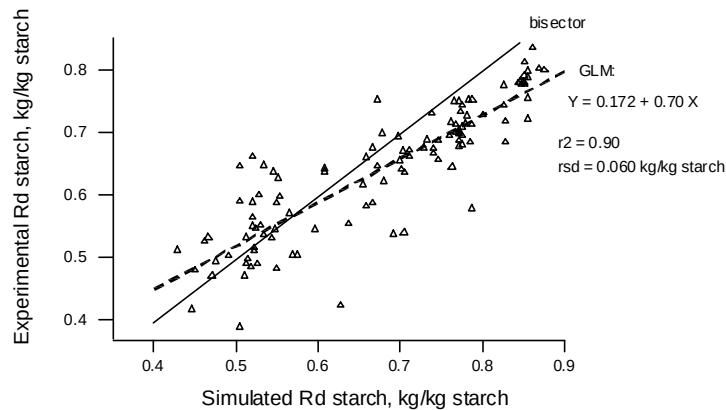


Fig. 1. Within experiment comparison of experimental and simulated starch digestibility in the rumen by the LES model of Lescoat and Sauvant (1995).

3.1.2. Prediction of fiber digestion

Representation of fiber digestion in the models

The ways of representing fiber digestion differed among models. LES was based on two *in situ* fiber fractions (i.e., degradable and undegradable). In CNCPS, fiber was also described by the same available (CB2) and unavailable (CC) fractions. However, the method of fractionation differed. The CC was calculated from acid detergent lignin (ADL) as: CC (% of DM) = $2.4 \times \text{ADL} (\% \text{ of DM})$. MOL is based on dynamic properties of the three fiber compartments, being cellulose, hemicellulose and lignin. The extent of fiber degradation also varied among the models. The degradation rates of fraction CB2 ranged between 0.03 and 0.09 /h for most common feedstuffs in CNCPS, whereas the *in situ* degradation rates used in LES had a larger range, between 0.02 and 0.12 /h. Fiber degradation rates were variable only among forage types in MOL. In all cases, degradation rates were negatively affected by pH and this influence was modeled differently in LES, MOL and CNCPS for pH's between 5 and 6 (Fig. 2).

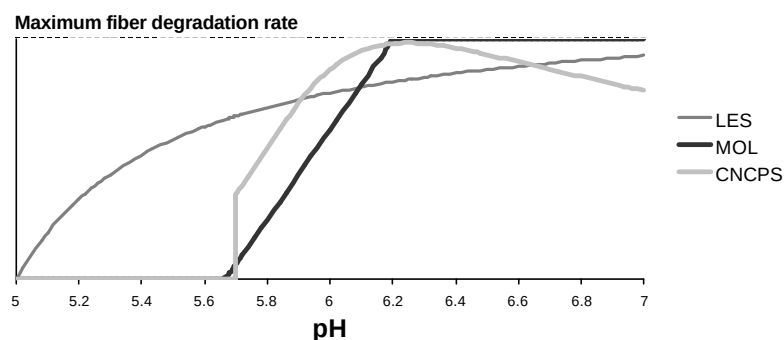


Fig. 2. Modelisation of pH negative influence on fiber degradation rates with the three models (LES, MOL, CNCPS).

Model evaluation on the prediction of fiber digestion

Model predictions of fiber digestibility in the rumen (Rd NDF, kg/kg NDF) were compared for 150 treatments from 40 references. Results indicated poor global correlations between experimental and simulated Rd NDF by all three models (Table 5). LES and CNCPS greatly underestimated NDF digestion: Rd NDF (LES) = 0.30 ± 0.033 kg/kg NDF and Rd NDF (CNCPS) = 0.35 ± 0.059 kg/kg NDF. These results are not consistent with Kohn et al. (1995), who demonstrated an underestimation of NDF duodenal flux in MOL (- 31.4 g NDF/d) and CNCPS (- 9.1 g NDF/d) for 20 treatments. The residuals of the global analyses were used to test the influences of DM intake, forage proportion, dietary starch and pH on the residuals. A large part of the residuals were explained by dietary starch (r^2 ranged from 0.23 to 0.42). The three models tended to underestimate NDF digestion in the rumen, especially as starch content fell below the thresholds of 20, 44 and 61% of DM for MOL, CNCPS and LES, respectively. In contrast, NDF digestion was overestimated above these thresholds. The influences of DM intake and pH, though less important, were significant. The three models tended to overestimate NDF digestion in the rumen for DM intake above 3.5% of LW and also for rumen pH below 6.15. The various representation of the pH effect on fiber degradation (Fig. 2) did not affect results. The relationship between experimental and simulated values by LES was improved with the integration of pH predicted by LES. Poor predictions could also be related to poor estimations of the rumen transit of fiber particles. For example, Archimède et al. (1995) observed, from 14 diets representing a fairly large range of dietary situations, that prediction of rumen NDF digestibility, and in the total tract, was much better from the potentially degradable NDF fraction (b), than from effective degradability (ED), the same conclusion reached from our database. Indeed, ED calculated with a constant passage rate of 0.06 /h, or with variable passage rates derived from LES, greatly underestimated NDF digestibility in the rumen. The potentially degradable NDF fraction was well correlated ($n = 150$, $r^2 = 0.29$, $rsd = 0.098$ kg/kg NDF, $b = 0.74$) to NDF digestibility in the rumen, with a residual partly explained by DM intake and pH. Within experiments, the prediction of NDF digestibility from the potentially degradable NDF fraction was better ($r^2 = 0.91$, $rsd = 0.041$ kg/kg NDF, $b = 0.38$) than model predictions. The passage rate value that maximized the accuracy of the fiber digestion prediction was 0.027 /h. These results suggest that the residence time of fiber was greatly underestimated by all three rumen models. Results of the within experiment analyses showed that LES was not sensitive to variations in NDF digestibility. MOL provided the best fit with a rsd of 0.041 kg/kg NDF. However, the slope was much lower than 1 ($b = 0.26$) because the range of the simulated values was larger than the observed (Fig. 3). This figure shows that 3% of the observed values were above 0.55 kg/kg NDF while this proportion was 47% for the simulated values.

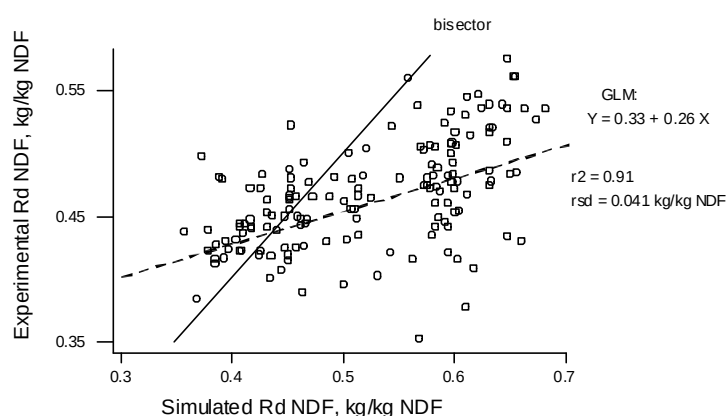


Fig. 3. Within experiment comparison of experimental and simulated fiber digestibility in the rumen by Molly model (Baldwin et al., 1999).

3.2 Prediction of microbial characteristics

Representation of microbial dynamics in the models

The models greatly simplified the complexity of the rumen microbial ecosystem. Two compartments were included for microbes, with MOL and CNCPS distinguishing cellulolytic and amylolytic populations, whereas attached and free microbes were distinguished in LES. Efficiency of microbial growth was influenced by the availability of substrates, the substrate residence time, the microbial chemical composition, as well as maintenance and growth rates. Growth rate was derived from carbohydrate (i.e., fiber, starch, soluble sugar) degradation. Nitrogen (NH_3 , AA) was considered as a potentially limiting factor, except in LES. Microbes were defined with a fixed chemical composition within each model, which differed among models. Maintenance rate was set to 0.05 g carbohydrate/g microbial DM/ h (Isaacson et al., 1975), although CNCPS used a higher maintenance rate for amylolytic bacteria (0.15 vs. 0.05). Recycling mechanisms, such as the engulfment of bacteria by protozoa, were only considered in CNCPS. Protozoa were taken into account by a decrease by 20% in the theoretical maximum growth yield. Differences among CNCPS, MOL and LES in microbial composition, microbial yield and substrate incorporation, could influence simulated microbial growth.

Model evaluation on the prediction of the duodenal flux of microbial nitrogen

Model predictions of the duodenal flux of microbial N (MIN, g/d) were compared for 115 treatments from 32 references. Results indicate that experimental and simulated duodenal fluxes of microbial N were globally poorly correlated (Table 5). Moreover, MOL significantly underestimated MIN, with a mean value of 261 ± 37 g/d versus 316 ± 49 g/d and 324 ± 61 g/d for LES and CNCPS. Differences between experimental and simulated values

were highly linked with variations in rumen pH. Indeed, the three models tended to underestimate the duodenal flux of microbial N for pH below 6.05, 6.11 and 6.65 for CNCPS, LES and MOL, respectively. The within experiment simulations showed that the relationship between experimental MIN and simulated MIN was always highly significant. CNCPS predicted MIN more accurately (Fig. 4), although LES was also satisfactory and MOL was at a disadvantage due to its large underestimation. For MOL, results confirmed the study of Ramangasoavina and Sauvant (1993), which showed that MOL to be insensitive to variations in microbial N flow ($b = 0.33$ vs. 0.30). However, CNCPS appeared to be more sensitive in the present analysis than in that previously cited ($b = 0.91$ vs. 0.43).

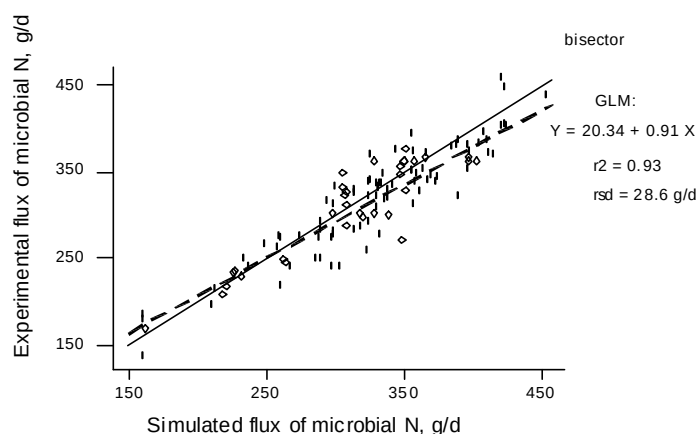


Fig. 4. Within experiment comparison of experimental and simulated fluxes of microbial N by the CNCPS (Fox et al., 2000).

Model evaluation on the prediction of the efficiency of microbial growth

The amount of bacterial N per unit of OM truly fermented in the rumen (BNRFOM, g N/kg OM) is a commonly used method to estimate the efficiency of microbial growth. Model predictions of BNRFOM were compared for 111 treatments from 31 references. Results indicate that there was no significant global correlation between experimental and simulated BNRFOM by any model. LES overpredicted BNRFOM, with a mean value of 37.6 ± 1.7 g N/kg OM, while MOL and CNCPS underpredicted BNRFOM with mean values of 20.4 ± 1.4 and 22.5 ± 1.6 g N/kg OM respectively. The differences between experimental and simulated values were linked to variations in rumen pH. Indeed, the three models tended to underestimate the efficiency of microbial growth for pH's below 5.6, 6.5 and 6.7 for LES, CNCPS and MOL, respectively. Results of the within experiment analyses showed that variations in BNRFOM were accurately predicted only by CNCPS. Fig. 5 represents the within experiment simulations obtained with CNCPS and shows the large mean deviation to the bisector, despite the controlled experimental effect (-7.1 g N/kg OM). Ramangasoavina

and Sauvant (1993) also compared experimental ($n = 49$) and simulated values of BNRFOM and significant correlations between experimental and simulated BNRFOM occurred for MOL and CNCPS. As a result, Ramangasoavina and Sauvant (1993) proposed an empirical equation to predict BNRFOM from DM intake and forage proportion.

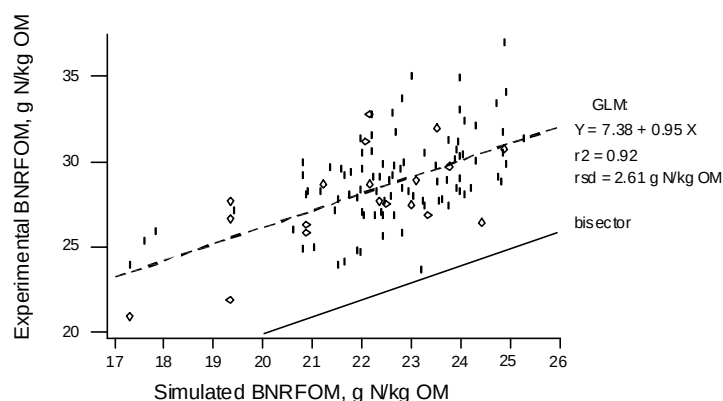


Fig. 5. Within experiment comparison of experimental and simulated efficiency of microbial growth by the CNCPS (Fox et al., 2000).

3.3 Prediction of rumen fermentation

Representation of rumen parameters in the models

A stoichiometric representation of VFA production was developed from experimental data by Murphy et al. (1982), and these estimated parameters were adapted and used in MOL. Lescoat and Sauvant (1994) proposed empirical equations, which were later used in LES. The representation of VFA absorption differed slightly among models. The rate of VFA absorption was fixed at 10.5 mol/d in MOL, whereas LES considered a Michaelis Menten function of VFA concentration in the rumen. The CNCPS did not include a VFA prediction, although this is now in development. Prediction of pH is often based on VFA concentration, expressed in mM. For example, the empirical equation: $\text{pH} = 7.56 - 0.0131 [\text{VFA}]$ was included in LES. Lactate concentration was added in MOL to create: $\text{pH} = 7.20 - 0.015 [\text{VFA}] + 0.0015 [\text{LAC}]$. Alternatively, Pitt et al. (1996) proposed an entirely different approach based on effective NDF (eNDF), where eNDF represents the percent of NDF remaining on a 1.18 mm screen after dry sieving, and so described the NDF to be 'effective' in stimulating chewing and rumination. Rumen pH in CNCPS was predicted as: $\text{pH} = 5.46 + 0.38 \text{ eNDF}$ and $\text{pH} = 6.46$ when eNDF was above 26.3% of NDF.

Model evaluation of the prediction of VFA concentration

Model predictions of VFA concentrations were compared for 156 treatments from 41 references. Results indicate that VFA concentrations were greatly underestimated in MOL

(i.e., VFA (MOL) = 65 ± 11 mM). Moreover, simulated VFA concentrations by MOL were not correlated with experimental values. However differences between experimental and simulated values were largely related to variations in dietary starch levels. Indeed, the models underestimated VFA concentrations more as dietary starch levels declined. Results of the within experiment analyses also showed that variations in VFA concentrations were not well predicted by MOL. In contrast, simulated VFA concentrations in LES were related to the experimental values. The within experiment analyses confirmed this result, with a *rsd* of 8.2 mM (Fig. 6). However, as shown in Fig. 6, the slope was less than 1, possibly due to a larger range of simulated values when compared to the experimental ones. The within experiment simulations of the acetate to propionate ratio were good for both models with *rsd* about 0.37. The slopes of the within experiment analyses were of 0.80 for MOL and 0.54 for LES.

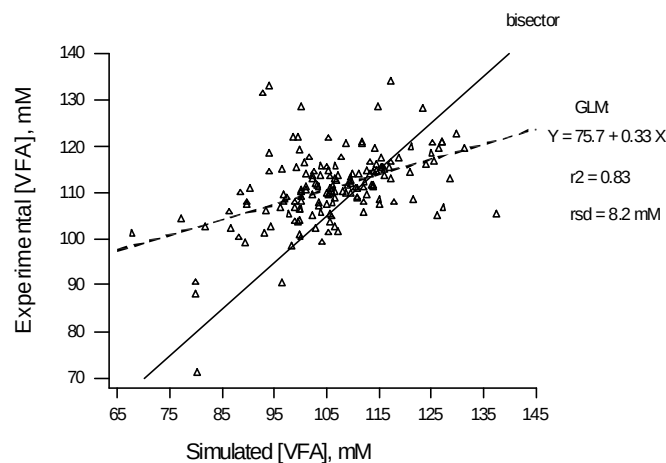


Fig. 6. Within experiment comparison of the experimental and simulated volatile fatty acids concentration by the LES model of Lescoat and Sauvant (1995).

Model evaluation on the prediction of pH

Model predictions of pH were compared for 167 treatments from 42 references. The pH tended to be overestimated by the models, especially by CNCPS, where pH (CNCPS) = 6.36 ± 0.17 . Indeed, as explained previously, the pH was set to its maximal value (pH max = 6.46) in many feeding situations. Results indicate that experimental pH was correlated to those simulated in general by LES ($r^2 = 0.31$) and CNCPS ($r^2 = 0.04$). No correlation was observed with the pH predicted by MOL. Differences between experimental and simulated values were linked to the proportion of forage in the diet. Indeed, the models overestimated rumen pH more as diets increased in proportion of concentrates. Fig. 7 represents within experiment simulations with LES, which was the most accurate model at predicting pH. The value of *rsd* (0.22) is of the same order of magnitude as the *rsd* of empirical prediction of pH from dietary parameters (Sauvant et al., 1999a).

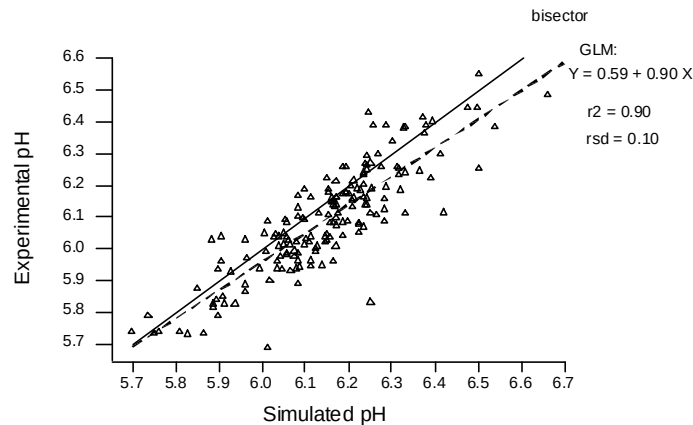


Fig. 7. Within experiment comparison of experimental and simulated rumen pH by the LES model of Lescoat and Sauvant (1995).

4. Discussion

The methods used here to compare the rumen models differed in several aspects from methods of Ramangasoavina and Sauvant (1993), Kohn et al. (1995), and Bannink et al. (1997ab). First, the current comparative evaluation was based on a much larger number of observations that covered a larger range of feeding situations. This larger database allows some previous contradictions to be explained. For instance, Bannink et al. (1997b) demonstrated that MOL tended to underestimate NDF digestion in the rumen, whereas Kohn et al. (1995) demonstrated the opposite. Our comparative study suggested that the major cause of overestimation of NDF digestibility in the rumen could be related to high producing dairy cows fed high dietary starch, or with DM intake above 3.5% of LW or rumen pH below 6.15. This is consistent with the discrepancies among the previous references where Bannink et al. (1997b) compared the models from studies with dairy cows fed mainly with grass herbage, and Kohn et al. (1995) compared the models from studies with high producing dairy cows fed North American rations, which were higher in concentrates. The evaluation of the models over a wide range of practical feeding situations required a much broader selection of experimental observations than Bannink et al. (1997ab). Thus, the observations often contained less measured parameters and more assumptions had to be made.

One major difficulty in the model comparison was probably to assure that the models were used properly. Indeed, the models were generally not sufficiently explanatory and some specific parameter inputs (e.g., diet, rumen) were difficult to estimate (Bannink et al., 1997c). The method described in our study involved the compilation and development of a feed library with common feed characteristics, so that the comparisons were based on consistent

inputs (Table 3). For some very specific input parameters, the proper values given by the models were chosen so as not to introduce estimation errors. For instance, the sensitivity of CNCPS to various feed factors was tested by Fox et al. (2000) and the model was shown to be very sensitive to variations in effective NDF content, CP solubility or rumen starch. Therefore, for these three factors, the values in the CNCPS feed library were used. Kohn et al. (1995) calculated all feed model inputs from the CNCPS feed library, and so assumed accuracy of the library values. However, examples presented in the current paper show that this approach may misrepresent the other models. The current method was original and had two main advantages. The first was to reflect the normal use of these rumen models by external users, and in this respect it differed from Bannink (1997) who modified the models with specific adaptations. The second advantage was that it had to be simple to use and so applicable on large numbers of data.

The comparative evaluation of rumen models in our study used a statistical comparative approach, which differed from the previous ones (Ramangasoavina and Sauvant, 1993; Kohn et al., 1995; Bannink et al., 1997ab). Attention was paid to variations among and within experiments. The within experiment analyses showed r^2 to be artificially high, due to the weight of the variations among experiments. These variations were fairly large, as residual variations in the within experiment analyses corresponded in all cases to less than 50% of the residual variations in the global equations (Table 5). The variations among experiments could be explained by those of the experimental conditions (e.g., animal, diet) but also by differences in the applied methodologies of measurement. This aspect was particularly true for items such as BNRFOM, which depends on a set of successive measures, and pH, which depends on the time chosen for measurement after a meal. These statistical analyses within experiments provided increased accuracy, and more reliable predictions. It is also reasonable to assume that the within experiment variations are closer to general realities (St-Pierre, 2001).

The current study allowed evaluation of the principles that were applied in these rumen models (Table 5), and allowed conception of better representations that could be adopted for future rumen models. Starch digestion, for instance, was fairly well described by the *in situ* parameters, if correction factors were applied to improve accuracy (Offner and Sauvant, 2003). The *rsd* of global or within experiment predictions (Table 5) were comparable to the *rsd* resulting from the empirical prediction of Rd starch from starch ED (Offner and Sauvant, 2003). Similarly, the slope associated with LES presented a bias, especially for rapidly degraded starch diets. In this case, the model, like the experimental *in situ* observations, tended to overestimate starch digestion. This could partly be adjusted by applying correction factors (Nocek and Tamminga, 1991). Relative to fiber digestion,

predictions were not satisfactory, and reasons for this are not clear. However the biologically appropriate way partition fiber is a subject of debate. Fiber can be characterized by two fractions, being potentially digestible and indigestible. Several empirical equations were developed for prediction of indigestible NDF. The *log* equations of Traxler et al. (1998) were more sound biologically, and gave better estimates compared to the linear equation used in CNCPS. Chapoutot (1998) proposed another empirical equation, based on both lignin and cellulose ($Ce = ADF - ADL$) as: indigestible NDF = $-1.26 + 0.43 \times Ce + 1.10 \times ADL$ ($n = 216$, $R^2 = 0.89$, $rsd = 7.1\%$ of DM). However, the indigestible fraction was better predicted by *in situ* or *in vitro* methods (Mertens, 1993), but maximum time of incubation should be standardized. Most models predicting fiber digestion (Waldo, 1972; Mertens and Ely, 1979; Robinson et al., 1986; Sniffen et al., 1992; Lescoat and Sauvant, 1995) assumed first order digestion processes with respect to substrate. However, the use of simple first order kinetics might not be the most appropriate for modeling fiber digestion. Some models (Baldwin et al., 1987) also considered the influence of microbial matter on fiber degradation. There is also a need to include a lag time for the start of the fermentation. Dhanoa et al. (1995) proposed a model describing lag and sigmoidal behavior. Inadequate predictions observed with these three models could also be explained by the assumptions of the pH effect on the rate of NDF degradation (Fig. 2), or by the way of modeling transit of fiber particles. In this context, it would likely be more valuable to reconsider the principles of having several fiber compartments, and fractional outflow rates according to particle size, as applied in the model of Mertens and Ely (1979). Concerning rumen microbes, the representation proposed by Russell et al. (1992) was the most appropriate to predict the duodenal flux of microbial N as well as the microbial efficiency. In this model, microbial growth was dependent upon rate of carbohydrate degradation. The model also had the advantages of including different maintenance requirements, a constant maximum microbial yield, and N was considered as a potentially limiting factor. A more detailed model was proposed by Dijkstra (1994a) which included protozoa. Dijkstra et al. (2002) reviewed the different modeling approaches of microbial metabolism. Finally, some empirical principles introduced in the models were shown to be accurate. For example, predictions of pH from VFA concentration (Lescoat and Sauvant, 1995) allowed good agreement with experimental pH values. However, further work is required on the representation of VFA kinetics and of VFA coefficients of fermentation stoichiometry, particularly the acetate to propionate ratio (Bannink et al., 1997d).

Causes of unsatisfactory model predictions could be attributed to inaccurate predictions of intermediate parameters, or to poor integration of the influence of the parameters. For example some dietary or ruminal parameters, that were not considered or that were not well estimated by the models, might have a significant influence on animal

response. For instance, the rumen volume, the saliva flow and the rumen liquid outflow were poorly described and estimated by the models. These intermediate parameters could substantially affect the results. Rumen volume is closely linked to the physiological stage of the animal, and to its feed intake level (Rémond, 1988), but there is no reliable prediction model. Rumen volume affects the rate of passage of digesta out of the rumen and the VFA absorption (Dijkstra, 1994b). Saliva flow was not included in CNCPS and LES, despite its important role in pH regulation. An empirical model of buffer recycling in cattle was later proposed by Sauvant et al. (1999b). In addition, poor integration of the influences of various parameters may have been another cause of unsatisfactory predictions. Study of the factors interfering with results of the global predictions shows the large influence of level of DM intake, its forage proportion, its level of starch and also rumen pH. It is well known that complex interactions occur within the diversified ruminal microflora (Wolin, 1979; Theodorou and France, 1993). These interactions, such as competition for substrate utilization and predation of bacteria by protozoa, regulate microbial activity and modify nutrient digestibility. Digestive interactions caused by variations in the level of DM intake, forage proportion or dietary starch were not negligible (Sauvant and Mertens, 1999). Results of the current study support the hypothesis that more attention should be paid to microbial interactions in rumen models. For instance, the differential sensitivity of cellulolytic and amylolytic bacteria to rumen pH was considered, but with widely different representations of pH effect (Dijkstra and Bannink, 2000). The pH effect on fiber digestion, depicted in Fig. 2, might not be sufficiently accurate. The prediction of particle passage rate out of the rumen is another example of an area that has not been subjected to much investigation. Empirical relationships were established by Lescoat and Sauvant (1995), and a more mechanistic approach based on NDF rumen capacity, was adopted by Chilibroste et al. (1997). More recently, Cannas and Van Soest (2000) proposed new empirical models to predict passage rates from feed intake, LW, dietary and forage protein and fiber. Until now, few quantitative analyses on the consequences of microbial interactions have been conducted (Michalet-Doreau et al., 1997) and used in feeding systems or in models. Some empirical adjustments were proposed by Sauvant and Mertens (1999) to predict the OM digestibility of a diet, that depended on DM intake and forage proportion. Both experimental research and modeling should focus more on these aspects, and the mathematical representation of microbial activities in the rumen should integrate interactions among rumen microbial populations, their utilization of substrates, and formation of end-products. This is essential if models are to provide satisfactory predictions of the profiles of nutrients available to the animal from ruminal fermentation of feedstuffs. It is noteworthy that for each studied parameter, the three models presented similar limits. Indeed, close relations were observed among the prediction errors of the three models. At the present time, rumen models are not sufficient to provide predictive

accuracy in nutrient inputs to intermediary metabolism, in other words to go beyond the rumen compartment.

5. Conclusion

Rumen model comparisons (Ramangasoavina and Sauvant, 1993; Kohn et al., 1995; Bannink et al., 1997ab) have been published that are applicable to the Molly mechanistic rumen model (Baldwin et al., 1970), the CNCPS model (Fox et al., 2000) and the LES model of Lescoat and Sauvant (1995). These comparative evaluations differed from the current study in terms of the validated parameters and in the approach applied to calculate inputs. The present study better evaluated all models on a common basis of inputs and with a larger diversity of feeding situations. Our results differed from previous comparisons, and this shows the difficulties of comparative studies. Nevertheless, the major strengths and weaknesses of the models were identified and, overall, they gave some satisfactory predictions. Indeed, CNCPS predicted the duodenal flow of microbial N with a good accuracy. This comparative study also shows the good ability to predict starch digestion from *in situ* measurements using the LES model. In contrast, the *in situ* measurements were not the best to predict NDF digestibility. Some predictions, such as VFA concentration, were not predicted accurately by any model and had large residual standard deviations. The predictions of microbial compartments also appeared to be inadequate. For practical use, the definition of feed fractions and degradation rates should be precise and generally measured. In this respect, CNCPS was not the most appropriate. Results of this comparative study allow better evaluation of the current limits of our knowledge and so to better target future research. It seems clear that more research is needed to improve the model predictions. Indeed, the models were not satisfactory for use in feed formulation. Since these simulations were based on continuous feeding, and future models may include the integration of feeding dynamic with shorter time steps, greater accuracy is possible.

Acknowledgements

The authors wish to thank Cargill Animal Nutrition for financial support of this research in the form of a doctoral fellowship for A. Offner.

References

- Archimède, H., Sauvant, D., Dorléans, M., Chapoutot, P., Poncet, C., 1995. Influence of the nature of forage and concentrate on the digestive interactions measured *in sacco* and *in vivo*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 54, 341-356.
- Avila, C.D., DePeters, E.J., Perez-Monti, H., Taylor, S.J., Zinn, R.A., 2000. Influences of saturation ratio of supplemental dietary fat on digestion and milk yield in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83, 1505-1519.
- Aydin, G., Grant, R.J., O'Rear, J., 1999. Brown midrib sorghum in diets for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82, 2127-2135.
- Baldwin, R.L., Lucas, H.L., Cabrera, R., 1970. Energetic relationships in the formation and utilization of fermentation end-products. In: A.T. Phillipson (ed.), *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant*. Oriel Press, Newcastle, 319-335.
- Baldwin, R.L., Koong, L.J., Ulyatt, M.J., 1977. A dynamic model of ruminant digestion for evaluation of factors affecting nutritive value. *Agric. Syst.* 2, 255-288.
- Baldwin, R.L., France, J., Gill, M., 1987. Metabolism of the lactating cow II. Digestive elements of a mechanistic model. *J. Dairy Res.* 54, 107-131.
- Bannink, A., De Visser, H., 1997a. Comparison of mechanistic rumen models on mathematical formulation of extramicrobial and microbial processes. *J. Dairy Sci.* 80, 1296-1314.
- Bannink, A., De Visser, H., van Vuuren, A.M., 1997b. Comparison and evaluation of mechanistic rumen models. *Brit. J. Nutr.* 78, 563-581.
- Bannink, A., De Visser, H., Dijkstra, J., France, J., 1997c. Impact of diet-specific input parameters on simulated rumen function. *J. Theor. Biol.* 184, 371-384.
- Bannink, A., De Visser, H., Klop, A., Dijkstra, J., France, J., 1997d. Causes of inaccurate prediction of volatile fatty acids by simulation models of rumen function in lactating cows. *J. Theor. Biol.* 189, 353-366.
- Beauchemin, K.A., 1991. Effects of dietary neutral detergent fiber concentration and alfalfa hay quality on chewing, rumen function, and milk production of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74, 3140-3151.
- Beauchemin, K.A., Buchanan-Smith, J.G., 1990. Effects of fiber source and method of feeding on chewing activities, digestive function, and productivity of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73, 749-762.
- Beauchemin, K.A., Farr, B.I., Rode, L.M., 1991. Enhancement of the effective fiber content of barley-based concentrates fed to dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74, 3128-3139.

- Beauchemin, K.A., Farr, B.I., Rode, L.M., Schaalje, G.B., 1994. Optimal neutral detergent fiber concentration of barley-based diets for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77, 1013-1029.
- Bosch, M., 1991. Influence of stage of maturity of grass silages on digestion processes in dairy cows. PhD thesis, Wageningen, Netherlands, 150p.
- Cameron, M.R., Klusmeyer, T.H., Lynch, G.L., Clark, J.H., Nelson, D.R., 1991. Effects of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows. *J. Dairy Sci.* 74, 1321-1336.
- Cannas, A., van Soest, P.J., 2000. Simple allometric models to predict rumen feed passage rate in domestic ruminants. In: J.P. McNamara, J. France, D.E. Beever (eds), *Modelling nutrient utilization in farm animals*. CAB international, 49-62.
- Chan, S.C., Huber, J.T., Theurer, C.B., Wu, Z., Chen, K.H., Simas, J.M., 1997. Effects of supplemental fat and protein source on ruminal fermentation and nutrient flow to the duodenum in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80, 152-159.
- Chapoutot, P., 1998. Etude de la dégradation *in situ* des constituants pariétaux des aliments pour ruminants. Thèse de docteur de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon, France.
- Chilibroste, P., Aguilar, C., García, F., 1997. Nutritional evaluation of diets. Simulation model of digestion and passage of nutrients through the rumen-reticulum. *Anim. Feed Sci. Technol.* 68, 259-275.
- Christensen, R.A., Cameron, M.R., Klusmeyer, T.H., Elliott, J.P., Clark, J.H., Nelson, D.R., Yu, Y., 1993. Influence of amount and degradability of dietary protein on nitrogen utilization by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76, 3497-3513.
- Christensen, R.A., Clark, J.H., Drackley, J.K., Blum, S.A., 1998. Fatty acid flow to the duodenum and in milk from cows fed diets that contained fat and nicotinic acid. *J. Dairy Sci.* 81, 1078-1088.
- Coblentz, W.K., Coffey, K.P., Turner, J.E., Scarbrough, D.A., Weyers, J.S., Harrison, K.F., Johnson, Z.B., Daniels, L.B., Rosenkrans, C.F. Jr, Kellogg, D.W., Hubbell, D.S. III., 2000. Effect of maturity on degradation kinetics of sod-seeded cereal grain forage grown in northern Arkansas. *J. Dairy Sci.* 83, 2499-2511.
- Cunningham, K.D., Cecava, M.J., Johnson, T.R., 1994. Flows of nitrogen and amino acids in dairy cows fed diets containing supplemental feather meal and blood meal. *J. Dairy Sci.* 77, 3666-3675.
- De Visser, H., Klop, A., van der Koelen, C.J., van Vuuren, A.M., 1998. Starch supplementation of grass harvested at two stages of maturity prior to ensiling: intake, digestion, and degradability by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81, 2221-2227.

- Dhanao, M.S., France, J., Siddons, R.C., Lopez, S., Buchanan-Smith, J.G., 1995. A non-linear compartmental model to describe forage degradation kinetics during incubation in polyester bags in the rumen. *Br. J. Nutr.* 73, 3-15.
- Dijkstra, J., 1994a. Simulation of the dynamics of protozoa in the rumen. *Br. J. Nutr.* 72, 679-699.
- Dijkstra, J., 1994b. Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. *Livest. Prod. Sci.* 39, 61-69.
- Dijkstra, J., France, J., 1995. A comparative evaluation of models of whole rumen function. In: *Methods in modelling herbivore nutrition. Proceedings of the IVth international symposium on the nutrition of herbivores*, Paris, France.
- Dijkstra, J., Bannink, A., 2000. Analyses of modelling whole rumen function. In: M.K. Theodorou, J. France (eds), *Feeding systems and feed evaluation models*. CAB international, 299-322.
- Dijkstra, J., Neal, H., Beever, D., France, J., 1992. Simulation of nutrient digestion, absorption and outflow in the rumen: model description. *J. Nutr.* 122, 2239-2256.
- Dijkstra, J., Mills, J.A.N., France, J., 2002. The role of dynamic modelling in understanding the microbial contribution to rumen function. *Nutr. Res. Rev.* 15, 67-90.
- Doreau, M., Rémond, B., 1982. Comportement alimentaire et utilisation digestive d'une ration de composition constante chez la vache laitière en fin de gestation et début de lactation. *Reprod. Nutr. Dev.* 22, 307-324.
- Doreau, M., Delacroix, A., Jouany, J.P., Durier, C., Rémond, B., 1990. The influence of physiological state and dietary nitrogen supply on digestion in the dairy cow. *J. Anim. Sci.* 68, 3853-3860.
- Doreau, M., Ferlay, A., Elmeddah, Y., 1993. Organic matter and nitrogen digestion by dairy cows fed calcium salts of rapeseed oil fatty acids or rapeseed oil. *J. Anim. Sci.* 71, 499-504.
- Espindola, M.S., DePeters, E.J., Fadel, J.G., Zinn, R.A., Perez-Monti, H., 1997. Effects on nutrient digestion of wheat processing and method of tallow addition to the diets of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80, 1160-1171.
- Fischer, J.M., Buchanan-Smith, J.G., Campbell, C., Grieve, D.G., Allen, O.B., 1994. Effects of forage particle size and long hay for cows fed total mixed rations based on alfalfa and corn. *J. Dairy Sci.* 77, 217-229.
- Fox, D., Sniffen, C., O'Connor, J., Russell, J., van Soest, P., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III. Cattle requirements and diet adequacy. *J. Anim. Sci.* 70, 3578-3596.

- Fox, D., Tylutki, T., van Amburgh, M., Chase, L., Pell, A., Overton, T., Tedeschi, L., Rasmussen, C., Durbal, V., 2000. The net carbohydrate and protein system for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. CNCPS version 4.0.31. Model documentation. Department of Animal Science, Cornell University. 236p.
- Grant, R.J., Haddad, S.G., Moore, K.J., Pedersen, J.F., 1995. Brown midrib sorghum silage for midlactation dairy cows. J. Dairy Sci. 78, 1970-1980.
- Greife, H.A., Rooke, J.A., Armstrong, D.G., 1985. The digestion by cattle of silage-containing diets fed at two dry matter intakes. 2. Digestion of total amino acids and of D-alanine and D-glutamic acid. Br. J. Nutr. 54, 483-492.
- Herrera-Saldana, R., Gomez-Alarcon, R., Torabi, M., Huber, J.T., 1990. Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis. J. Dairy Sci. 73, 142-148.
- Hoffman, P.C., Brehm, N.M., Bauman, L.M., Peters, J.B., Undersander, D.J., 1999. Prediction of laboratory and *in situ* protein fractions in legume and grass silages using near-infrared reflectance spectroscopy. J. Dairy Sci. 82, 764-770.
- IO-7, 2002. Table informatisée correspondant à la Banque de données de l'alimentation animale, Association Française de Zootechnie. www.inapg.inra.fr/dsa/iobdaa/iobdaa.htm
- Isaacson, H., Hinds, F., Bryand, M., Owens, F., 1975. Efficiency of energy utilization by mixed rumen bacteria in continuous culture. J. Dairy Sci. 58, 1645-1659.
- Janicki, F.J., Stallings, C.C., 1988. Degradation of crude protein in forages determined by *in vitro* and *in situ* procedures. J. Dairy Sci. 71, 2440-2448.
- Joy, M.T., De Peters, E.J., Fadel, J.G., Zinn, R.A., 1997. Effects of corn processing on the site and extent of digestion in lactating cows. J. Dairy Sci. 80, 2087-2097.
- Klusmeyer, T.H., McCarthy, R.D., Jr., Clark, J.H., Nelson, D.R., 1990. Effects of source and amount of protein on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows. J. Dairy Sci. 73, 3526-3537.
- Knowlton, K.F., Glenn, B.P., Erdman, R.A., 1998. Performance, ruminal fermentation, and site of starch digestion in early lactation cows fed corn grain harvested and processed differently. J. Dairy Sci. 81, 1972-1984.
- Kohn, R.A., Boston, R.C., Ferguson, J.D., Chalupa, W., 1995. The integration and comparison of dairy cows models. In: A. Danfaer, P. Lescoat (eds), Proceedings of the IVth international workshop on modelling nutrient utilization in farm animals, Foulum, Denmark, 117-128.
- Kung, J.R., Craig, W.M., Satter, L.D., 1989. Ammonia-treated alfalfa silage for lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 72, 2565-2572.

- Le Liboux, S., Peyraud, J.L., 1998. Effect of forage particle size and intake level on fermentation patterns and sites and extent of digestion in dairy cows fed mixed diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 73, 131-150.
- Le Liboux, S., Peyraud, J.L., 1999. Effect of forage particle size and feeding frequency on fermentation patterns and sites and extent of digestion in dairy cows fed mixed diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 76, 297-319.
- Lescoat, P., Sauvant, D., 1994. Influence de la proportion de concentré dans la ration sur le profil ruminal des AGV. *Ann. Zootech.* 43, suppl. 1, 28.
- Lescoat, P., Sauvant, D., 1995. Development of a mechanistic model for rumen digestion validated using the duodenal flux of amino acids. *Reprod. Nutr. Dev.* 35, 45-70.
- Leventini, M.W., Hunt, C.W., Roffler, R.E., Casebolt, D.G., 1990. Effect of dietary level of barley-based supplements and ruminal buffer on digestion and growth by beef cattle. *J. Anim. Sci.* 68, 4334-4344.
- Licitra, G., Hernandez, T.M., van Soest, P.J., 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57, 347-358.
- Llamas-Lamas, G., Combs, D.K., 1990. Effect of alfalfa maturity on fiber utilization by high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73, 1069-1080.
- Lykos, T., Varga, G.A., Casper, D., 1997. Varying degradation rates of total nonstructural carbohydrates: effects on ruminal fermentation, blood metabolites, and milk production and composition in high producing Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 80, 3341-3355.
- Makoni, N.F., Shelford, J.A., Fisher, L.J., 1991. The rate and extent of silage nitrogen degradation in the rumen as influenced by wilting and duration of regrowth. *Can. J. Anim. Sci.* 71, 245-248.
- McCarthy, R.D., Jr., Klusmeyer, T.H., Vicini, J.L., Clark, J.H., Nelson, D.R., 1989. Effects of source of protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 72, 2002-2016.
- Mertens, D.R., 1993. Rate and extent of digestion. In: J.M. Forbes, J. France (eds), *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. CAB international, 13-51.
- Mertens, D.R., Ely, L.O., 1979. A dynamic model of fiber digestion and passage in the ruminant for evaluating forage quality. *J. Anim. Sci.* 49, 1085-1095.
- Michalet-Doreau, B., Ould-Bah, M.Y., 1992. Influence of hay making on *in situ* nitrogen degradability of forages in cows. *J. Dairy Sci.* 75, 782-788.
- Michalet-Doreau, B., Martin, C., Doreau, M., 1997. Optimisation de la digestion des parois végétales dans le rumen: quantification des interactions digestives. *Renc. Rech. Ruminants*, 4, 103-112.
- Molly, 1999. Model developed by R.L. Baldwin, University of California, Davis, v. 2.0.

- Murphy, M., Baldwin, R., Koong, L., 1982. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 55, 411-421.
- Nocek, J.E., Grant, A.L., 1987. Characterization of *in situ* nitrogen and fiber digestion and bacterial nitrogen contamination of hay crop forages preserved at different dry matter percentages. *J. Anim. Sci.* 64, 552-564.
- Nocek, J.E., Tamminga, S., 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 74, 3598-3629.
- Oba, M., Allen, M.S., 2000a. Effects of brown midrib 3 mutation in corn silage on productivity of dairy cows fed two concentrations of dietary neutral detergent fiber: 1. Feeding behavior and nutrient utilization. *J. Dairy Sci.* 83, 1333-1341.
- Oba, M., Allen, M.S., 2000b. Effects of brown midrib 3 mutation in corn silage on productivity of dairy cows fed two concentrations of dietary neutral detergent fiber: 3. Digestibility and microbial efficiency. *J. Dairy Sci.* 83, 1350-1358.
- Offner, A., Sauvant, D., 2003. Prediction of *in vivo* starch digestion in cattle from *in situ* data. *accepted in Anim. Feed Sci. Technol.*
- Offner, A., Bach, A., Sauvant, D., 2003. Quantitative review of *in situ* starch degradation in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 106, 91-93.
- Oliveira, J.S., Huber, J.T., Simas, J.M., Theurer, C.B., Swingle, R.S., 1995. Effect of sorghum grain processing on site and extent of digestion of starch in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 78, 1318-1327.
- Ørskov, E.R., McDonald, I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci. Camb.* 92, 499-503.
- Overton, T.R., Cameron, M.R., Elliott, J.P., Clark, J.H., Nelson, D.R., 1995. Ruminal fermentation and passage of nutrients to the duodenum of lactating cows fed mixtures of corn and barley. *J. Dairy Sci.* 78, 1981-1998.
- Pantoja, J., Firkins, J.L., Eastridge, M.L., Hull, B.L., 1994. Effects of fat saturation and source of fiber on site of nutrient digestion and milk production by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77, 2341-2356.
- Pereira, M.N., Armentano, L.E., 2000. Partial replacement of forage with nonforage fiber sources in lactating cow diets. II. Digestion and rumen function. *J. Dairy Sci.* 83, 2876-2887.
- Petit, H.V., Tremblay, G.F., 1992. *In situ* degradability of fresh grass and grass conserved under different harvesting methods. *J. Dairy Sci.* 75, 774-781.
- Peyraud, J.L., Le Liboux, S., Vérité, R., 1997. Effet du niveau et de la nature de l'azote dégradé sur la digestion ruminale d'un régime à base d'ensilage de maïs chez la vache laitière. *Reprod. Nutr. Dev.* 37, 313-328.

- Pitt, R., van Kessel, J., Fox, D., Pell, A., Barry, M., van Soest, P., 1996. Prediction of the ruminal volatile fatty acids and pH within the net carbohydrate and protein system. *J. Anim. Sci.* 74, 226-244.
- Poore, M.H., Moore, J.A., Swingle, R.S., Eck, T.P., Brown, W.H., 1993. Response of lactating Holstein cows to diets varying in fiber source and ruminal starch degradability. *J. Dairy Sci.* 76, 2235-2243.
- Ramangasoavina, B., Sauvant, D., 1993. Validation comparée de 3 modèles de digestion ruminale pour prédire les flux azotés duodénaux microbiens. *Ann. Zootech.* 42, 164-165.
- Rémond, B., 1988. Evolution du poids du contenu du réticulo-rumen chez les vaches laitières au cours des deux premiers mois de lactation. *Reprod. Nutr. Dev.* 28, 109-110.
- Robinson, P.H., Fadel, J.G., Tamminga, S., 1986. Evaluation of mathematical models to describe neutral detergent residue in terms of its susceptibility to degradation in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 15, 249-271.
- Russell, J., O'Connor, J., Fox, D., van Soest, P., Sniffen, C., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.* 70, 3551-3561.
- Santos, J.E.P., Huber, J.T., Theurer, C.B., Nussio, L.G., Tarazon, M., Santos, F.A.P., 1999. Response of lactating dairy cows to steam-flaked sorghum, steam-flaked corn, or steam-rolled corn and protein sources of differing degradability. *J. Dairy Sci.* 82, 728-737.
- Sauvant, D., 1988. La modélisation de la digestion dans le rumen. *Reprod. Nutr. Dev.* 28, suppl. 1, 33-58.
- Sauvant, D., 1997. Rumen mathematical modelling. In : P.N. Hobson, C.S. Stewart (eds), *The rumen microbial ecosystem*. Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall, 685-708.
- Sauvant, D., Mertens, D., 1999. Empirical modeling of digestive interactions in cattle. Vth international symposium on the nutrition of herbivores, San Antonio, Texas.
- Sauvant, D., Meschy, F., Mertens, D., 1999a. Les composantes de l'acidose ruminale et les effets acidogènes des rations. *INRA Prod. Anim.* 12, 49-60.
- Sauvant, D., Meschy, F., Mertens, D., 1999b. Empirical modelling of buffer recycling in cattle. *J. Dairy Sci.* 82, suppl. 1, 39.
- Schwab, C.G., Satter, L.D., Clay, A.B., 1976. Response of lactating dairy cows to abomasal infusion of amino acids. *J. Dairy Sci.* 59, 1254-1270.
- Shabi, Z., Bruckental, I., Zamwell, S., Tagari, H., Arieli, A., 1999. Effects of extrusion of grain and feeding frequency on rumen fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82, 1252-1260.

- Shaver, R.D., Nytes, A.J., Satter, L.D., Jorgensen, N.A., 1986. Influence of amount of feed intake and forage physical form on digestion and passage of prebloom alfalfa hay in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 69, 1545-1559.
- Shaver, R.D., Satter, L.D., Jorgensen, N.A., 1988. Impact of forage fiber content on digestion and digesta passage in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71, 1556-1565.
- Sniffen, C., O'Connor, J., van Soest, P., Fox, D., Russell, J., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70, 3562-3577.
- Stensig, T., Robinson, P.H., 1997. Digestion and passage kinetics of forage fiber in dairy cows as affected by fiber-free concentrate in the diet. *J. Dairy Sci.* 80, 1339-1352.
- Stokes, S.R., Hoover, W.H., Miller, T.K., Blauwiekel, R., 1991. Ruminal digestion and microbial utilization of diets varying in type of carbohydrate and protein. *J. Dairy Sci.* 74, 871-881.
- St-Pierre, N.R., 2001. Invited review: integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. *J. Dairy Sci.* 84, 741-755.
- Teller, E., Vanbelle, M., Foulon, M., Collignon, G., Matatu, B., 1992. Nitrogen metabolism in rumen and whole digestive tract of lactating dairy cows fed grass silage. *J. Dairy Sci.* 75, 1296-1304.
- Theodorou, M.K., France, J., 1993. Rumen microorganisms and their interactions. In: J.M. Forbes, J. France (eds), *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. CAB international, 145-163.
- Traxler, M.J., Fox, D.G., van Soest, P.J., Pell, A.N., Lascano, C.E., Lanna, D.P.D., Moore, J.E., Lana, R.P., Vélez, M., Flores, A., 1998. Predicting forage indigestible NDF from lignin concentration. *J. Anim. Sci.* 76, 1469-1480.
- van Straalen, W.M., Odinga, J.J., Mostert, W., 1997. Digestion of feed amino acids in the rumen and small intestine of dairy cows measured with nylon-bag techniques. *Br. J. Nutr.* 77, 83-97.
- van Vuuren, A.M., van der Koelen, C.J., Vroons-de Bruin, J., 1993. Ryegrass versus corn starch or beet pulp fiber diet effects on digestion and intestinal amino acids in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76, 2692-2700.
- Vogel, G.J., Phillips, W.A., Horn, G.W., Ford, M.J., McNew, R.W., 1989. Effects of supplemental silage on forage intake and utilization by steers grazing wheat pasture or bermudagrass. *J. Anim. Sci.* 67, 232-240.
- Waldo, D.R., 1972. Model of cellulose disappearance from the rumen. *J. Anim. Sci.* 55, 125-129.

- Wattiaux, M.A., Mertens, D.R., Satter, L.D., 1991. Effect of source and amount of fiber on kinetics of digestion and specific gravity of forage particles in the rumen. *J. Dairy Sci.* 74, 3872-3883.
- Widyobroto, B.P., 1992a. Influence de la proportion et de la nature du concentré sur les sites et la dynamique de la digestion chez la vache haute productrice - Essai 1. PhD thesis, Université de Rennes I, France, 26-48.
- Widyobroto, B.P., 1992b. Influence de la proportion et de la nature du concentré sur les sites et la dynamique de la digestion chez la vache haute productrice - Essai 2. PhD thesis, Université de Rennes I, France, 49-79.
- Wolin, M.J., 1979. The rumen fermentation: a model for microbial interactions in anaerobic ecosystems. In: M. Alexander (ed.), *Advances in microbial ecology*. Plenum Press, NY., Vol. 3, 49-77.
- Yang, W.Z., Beauchemin, K.A., Koenig, K.M., Rode, L.M., 1997. Comparison of hull-less barley, barley, or corn for lactating cows: effects on extent of digestion and milk production. *J. Dairy Sci.* 80, 2475-2486.
- Yang, W.Z., Beauchemin, K.A., Rode, L.M., 1999. Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82, 391-403.
- Yang, W.Z., Beauchemin, K.A., Rode, L.M., 2000. Effects of barley grain processing on extent of digestion and milk production of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 83, 554-568.

4. Conclusion partielle

Les modèles mécanistes développés jusqu'à présent sont principalement utilisés comme outil d'aide à la recherche et leur application sur le terrain reste limitée. En effet, aucun des modèles n'est encore complètement satisfaisant pour prédire les réponses de l'animal aux régimes. Les modèles mécanistes ne permettent pas à l'heure actuelle d'obtenir une meilleure précision que les modèles empiriques alors que le degré de complication augmente. Certaines limites sont apparues et ont pu être dégagées, notamment grâce aux études comparatives. Ainsi, la représentation des profils en acides gras volatils reste insuffisante, les interactions digestives sont encore peu prises en compte. D'autre part, les simulations sont uniquement basées sur un mode d'alimentation en continu. Cependant, les modèles mécanistes du rumen ont su évoluer avec les avancées de la recherche. La modélisation mécaniste a encore vraisemblablement de fortes potentialités d'évolution à offrir.

Partie II.

Développement d'un modèle de prédiction de la digestion de l'amidon chez les ruminants

1. Quantitative review of *in situ* starch degradation in the rumen

A. Offner, A. Bach, D. Sauvant, 2003. Anim. Feed Sci. Technol., 106, 81-93.

Quantitative review of *in situ* starch degradation in the rumen

Anne Offner ^a, Alex Bach ^b, Daniel Sauvant ^{a*}

^a UMR Physiologie de la Nutrition et Alimentation, Institut National de la Recherche Agronomique, 16 rue Claude Bernard, 75231 Paris Cedex 05, France

^b Agribbrands Europe, 189 Paseo San Juan, 08037 Barcelona, Spain

* Corresponding author. Tel.: +33-144-081-762; fax: +33-144-081-853.

E-mail address: sauvent@inapg.inra.fr (D. Sauvant).

Abstract

The partition of starch digestion in the digestive tract of ruminants has a great influence on various animal responses. There is a need to more accurately estimate and control the amount of starch degraded in the rumen. A quantitative review on starch degradability *in situ* was conducted from a database built from 48 references corresponding to 302 observations. Appropriate statistical analyses have been performed, particularly to correct for the variations among laboratories. The estimated values for the *in situ* starch parameters and for the effective degradability were calculated for 22 ingredients. The effect of some chemical or physical treatments was also investigated and quantified. The data confirmed that large differences occurred due to intrinsic properties of the feed. Furthermore, there was a strong influence of processing, especially on feedstuffs containing slowly degrading starch. This study updated the data on starch degradability *in situ*. The values presented have an interest for feedstuffs evaluation, for diet formulation and also for modelling ruminal digestion.

Keywords: starch; rumen degradation; *in situ* technique;

Abbreviations:

ED, effective degradability (kg kg⁻¹ starch); LAB, laboratory; MPS, mean particle size (mm); RM, raw material; RSD, residual standard deviation; T, temperature (°C);

1. Introduction

Dynamics of nutrient digestion in the reticulo-rumen are one major determinant of utilization of feedstuffs by ruminants. Thus, several feed protein evaluation systems (Vérité et al. 1987; Tamminga et al. 1994) were based on the kinetics of protein degradation. Various rumen models (Baldwin et al. 1987; Sniffen et al. 1992; Dijkstra 1993; Lescoat and Sauvant 1995) and the Dutch feed evaluation system (Tamminga et al. 1994) used parameters from starch degradation as inputs. Indeed, the rate of starch degradation in feedstuffs can affect rumen fermentation pattern, fibre digestibility and microbial protein synthesis (Chamberlain et al. 1985; Ørskov 1986). Therefore, accurate estimates of starch degradation of feedstuffs in the rumen are required. Among the different techniques developed to determine starch degradation, the *in situ* procedures are commonly used because they utilize the actual ruminal environment (Nocek 1988). This technique consists of incubations of feed samples in synthetic fibre (e.g. polyester, nylon) bags in the rumen for various times. Variations among feedstuffs, animals and laboratories can be observed with this method. However, databases with sufficient numbers of observations could, at least partly, overcome the lack of statistical power from a single study (St-Pierre 2001). Reviews on *in situ* starch degradation have been previously published by Nocek and Tamminga (1991) and Sauvant et al. (1994). These reviews remained incomplete with regard to the diversity of existing raw materials and processing treatments. The objectives of this study were 1) to update and report variations in the *in situ* ruminal starch digestion, 2) to define quantitative changes in starch degradation by the effect of processing conditions, and 3) to provide tables for a practical use.

2. Materials and methods

A database on starch *in situ* degradation was built from 48 references and 302 observations. The database contained 22 untreated raw materials. Some of these raw materials were subjected to physical (n treatments = 8) or chemical (n = 1) treatments. For a reference to be included in the base, it had to have data on *in situ* starch degradability on at least two feedstuffs with no less than 3 replications per feedstuff. Various other parameters were compiled in the database when they were available. Particularly, characteristics of the processing treatments: temperature, duration, particle size were reported. The temperature could rise up to 200 °C and the duration of the treatment up to 30 min. The mean particle size of ground feedstuffs was lower (0.18-0.55 mm) than that of "untreated" feedstuffs (0.55-5.5 mm). Data on *in situ* dry matter degradability were also reported for 82 observations. Depending on the references, the *in situ* kinetics of starch degradation had variable number (1 - 9) and length (0 - 72 h) of incubation. *In situ* kinetic values were adjusted with a monomolecular model: $D_t = a + b \cdot (1 - \exp(-ct))$ (Ørskov and McDonald 1979) where the

parameters a , b and c represent the fraction disappearing immediately, the fraction potentially degradable and the fractional degradation rate of b , respectively. In the case of starch, the degradation kinetic was fitted to this model without a lag time. It was also assumed that there was no totally undegradable fraction, therefore the sum of parameters a and b had to be 1 kg kg^{-1} starch. The consistency of this model was further detailed in the discussion. The database included parameters a , b , c and also the starch residues at each point of incubation. The equation $ED = a + b \cdot c / (c + k)$ was used to calculate starch effective degradability (ED). In this equation, k represents the flow rate of particles out of the rumen. This parameter is dependent on the level of dry matter intake. An average value of 0.06 h^{-1} was considered (NRC 1988, INRA 1989). The ED values were also calculated for k equal to 0.04 and 0.08 h^{-1} .

The database had a specific coding characterizing the type of raw material: RM ($n = 58$) and the laboratory: LAB ($n = 25$). RM were either untreated (22 cases) or treated. Analyses of variance with RM and LAB as explicative factors were also used to predict ED. The ED values were reported for 50 RM corresponding to 22 LAB. The statistical model was: $ED_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + e_{ijk}$ with μ representing the overall mean, α_i the raw material effect (49 degrees of freedom, df), β_j the laboratory effect (21 df), and e_{ijk} the residual error. From this analysis of variance, the least squares means of starch ED were determined for each type of feedstuff. By construction, the database had an unbalanced and incomplete design, which explained that the numbers of observations for the different statistical analyses could vary. Moreover, this design did not allow to study the interactions between RM and LAB effects. To assess them, two subsets of data with a complete balanced design were extracted from the database. The first group was made up of 3 RM (corn, barley and wheat) $\times$ 7 LAB. The second one comprised 4 RM (corn, barley, wheat and corn silage) $\times$ 3 LAB. The effect of processing treatments was analysed using an ANOVA with β_i the laboratory effect and δ_j the effect of treatment: $ED_{ijk} = \mu + \beta_i + \delta_j + e_{ijk}$. Statistical analyses were conducted only with studies comparing a treated ingredient to a control one (two values for j). In most cases, the control was whole or coarsely ground grain.

To estimate the probable amount of ruminally degraded and undegraded starch, another database was built with starch content values for the different feedstuffs. The database contained data from 12 feed tables of several European countries. The analysis of variance also included raw materials and laboratories as qualitative factors.

3. Results

3.1. Feedstuffs variability

The least squares means obtained from the analysis of variance (Table 1) showed that for ED both, laboratory effect ($sd_{lab} = 0.161 \text{ kg kg}^{-1} \text{ starch}$) and raw material effect ($sd_{rm} = 0.263 \text{ kg kg}^{-1} \text{ starch}$) were highly significant ($P < 0.001$). The accuracy of the model was satisfactory with an R^2 of 0.82 and a residual standard deviation (rsd) of $0.082 \text{ kg kg}^{-1} \text{ starch}$. In the case of untreated raw materials, the differences observed between the least squares means and the standard means were small, around 0.5 to 2.4%. Generally, means for starch effective degradability (ED) ranged from 0.60 to $0.95 \text{ kg kg}^{-1} \text{ starch}$. Slowly degraded starch, i.e. untreated corn and sorghum, had ED values around $0.60 \text{ kg kg}^{-1} \text{ starch}$ with high coefficients of variation of 21 and 26%. Other cereals, with rapidly degraded starch, had ED values, ranging from 0.80 to $0.95 \text{ kg kg}^{-1} \text{ starch}$ with lower coefficients of variation (4 - 8%). Starch ED of tubers and legume crops ranged between 0.75 - $0.85 \text{ kg kg}^{-1} \text{ starch}$. The impact of variable passage rates (0.04 h^{-1} - 0.08 h^{-1}) on starch ED was more important for feedstuffs with a low degradability of starch and with a large b fraction (Table 1). For instance, ED of sorghum ranged from 0.56 to $0.67 \text{ kg kg}^{-1} \text{ starch}$, ED of wheat ranged from 0.92 to $0.95 \text{ kg kg}^{-1} \text{ starch}$. The interaction between laboratory and raw material effects was tested on two subsets of data with balanced design and was not significant. Thus, the ranking of ED values for corn, barley and wheat was similar for the 7 laboratories of the first analysis. The same conclusion could be made when the interaction was tested on the second subset of data.

Starch generally represented a large proportion of the feed DM. Starch ED was positively correlated to dry matter ED, as demonstrated by the regression among the experiments: $\text{ED}_{\text{starch}} = 0.124 + 0.96 \cdot \text{ED}_{\text{DM}}$ ($R^2 = 0.78$, $rsd = 0.091 \text{ kg kg}^{-1} \text{ starch}$). This regression was set up from 82 observations (n) coming from 26 experiments (n_{exp}). The slope is very close to the bisector. The residual of the equation was partly explained by starch content expressed in $\text{g kg}^{-1} \text{ DM}$ ($n = 42$): $e_{ij} = 0.088 - 0.14 \cdot \text{starch}$.

Table 1

Values of parameters a^1 , c^2 and ED^3 for starch of various feedstuffs

		CORN									SORGHUM					BARLEY							WHEAT							
		Untreated	Ground	Cracked	Steam-rolled	Steam-flaked	Expanded	Extruded	Pelleted	Formol treated	Untreated	Ground	Expanded	Extruded	Formol treated	Untreated	Ground	Cracked	Steam-rolled	Steam-flaked	Expanded	Extruded	Formol treated	Untreated	By products	Ground	Steam-flaked	Expanded	Extruded	Formol treated
a ¹	n	28	6	1	1	2	2	3	3	2	8		1	2	25	3	1	2	1		3	13	10						2	
	$\bar{X}$	0.236	0.338	0.200	0.041	0.127	0.487	0.522	0.387	0.296	0.277		0.363	0.357	0.515	0.460	0.010	0.295	0.053		0.397	0.604	0.782					0.644		
	SE	0.024	0.060	*	*	0.076	0.080	0.092	0.088	0.110	0.074		*	0.059	0.048	0.223	*	0.288	*		0.159	0.073	0.046					0.060		
c ²	n	35	9	1	3	2	3	4	3	2	9	2	1	2	2	26	3	1	2	1	1	1	3	15	10	1	1	1	1	2
	$\bar{X}$	0.059	0.055	0.057	0.027	0.216	0.064	0.087	0.059	0.038	0.042	0.044	0.035	0.097	0.024	0.350	0.387	0.060	0.109	0.344	0.219	0.292	0.264	0.329	0.238	0.213	0.061	0.129	0.350	0.076
	SE	0.007	0.009	*	0.003	0.035	0.006	0.025	0.007	0.001	0.006	0.011	*	0.065	0.011	0.037	0.145	*	0.035	*	*	*	0.107	0.033	0.035	*	*	*	*	0.024
ED ³	n	29	6	1	1	2	3	4	3	2	9	1	2	2	26	3	1	2	1	1	1	3	13	10			1	1	2	
	$\bar{X}_{0.04}$	0.607	0.743	0.663	0.421	0.830	0.819	0.867	0.746	0.639	0.668	0.794	0.837	0.596	0.937	0.894	0.602	0.769	0.880	0.777	0.776	0.880	0.954	0.951			0.753	0.889	0.889	
	$\bar{X}_{0.06}$	0.597	0.679	0.584	0.338	0.803	0.773	0.828	0.685	0.569	0.603	0.756	0.798	0.541	0.913	0.859	0.503	0.706	0.839	0.690	0.683	0.844	0.939	0.937			0.669	0.841	0.855	
	SE	0.023	0.037	*	*	0.023	0.024	0.026	0.057	0.062	0.052	*	0.071	0.016	0.012	0.106	*	0.171	*	*	*	0.067	0.013	0.023			*	*	0.011	
	LSM _{0.06}	0.599	0.723	0.646	0.346	0.858	0.677	0.769	0.638	0.617	0.599	0.626	0.758	0.588	0.891	0.998	0.855	0.628	0.869	0.560	0.553	0.854	0.942	0.951			0.539	0.711	0.788	
	SE	0.019	0.039	0.095	0.098	0.066	0.052	0.046	0.051	0.065	0.031	0.090	0.067	0.065	0.020	0.060	0.129	0.075	0.086	0.090	0.090	0.051	0.027	0.030			0.090	0.090	0.061	
	$\bar{X}_{0.08}$	0.546	0.633	0.528	0.284	0.736	0.739	0.796	0.641	0.523	0.560	0.731	0.768	0.507	0.893	0.830	0.432	0.659	0.802	0.614	0.600	0.813	0.925	0.924			0.601	0.798	0.830	

¹ a represents the fraction of starch which disappears immediately, expressed in kg kg⁻¹ starch² c is the fractional degradation rate of the potentially degradable fraction (1 - a), expressed in h⁻¹³ ED represents starch effective degradability in kg kg⁻¹ starch. ED = $a + b \times c / (c + k)$ with k the passage rate from the rumen (0.04, 0.06 and 0.08 h⁻¹)

The least squares means (LSM) were calculated for all the ingredients. The effect of laboratory was taken into account.

		OTHER CEREALS & BYPRODUCTS										LEGUMINOUS & OILSEEDS										TUBER		FORAGE	
		Oats	Brewers	Hominy fed	Corn Gluten Meal	Corn Gluten Feed	CGF ⁴ + Formol	Triticale	Rice	Ricebran	Beet pulp	Peas	Ground Peas	Cracked Peas	Toasted Peas	Extruded Peas	Beans	Toasted Beans	Soyabean seeds	Soyabean meal	Sunflower meal	Potato	Manioc	Corn silage	Alfalfa
a ¹	n	6	2	2	1	6	1	2	1	5	1	9	2	1	10	2	6	11	1	2	1	7	5	15	2
	$\bar{X}$	0.668	0.770	0.390	0.230	0.562	0.673	0.453	0.260	0.188	0	0.462	0.494	0.411	0.278	0.699	0.371	0.369	0.452	0.313	0	0.452	0.695	0.668	0.042
	SE	0.182	0.053	0.090	*	0.058	*	0.395	*	0.057	*	0.058	0.066	*	0.039	0.037	0.091	0.040	*	0.313	*	0.093	0.071	0.070	0.042
c ²	n	6	2	2	1	6	1	2	1	5	1	9	2	1	10	2	6	11	1	2	1	7	5	15	2
	$\bar{X}$	0.189	0.174	0.053	0.286	0.119	0.130	0.583	0.076	0.127	0.049	0.116	0.192	0.153	0.045	0.344	0.079	0.043	0.072	0.120	0.066	0.091	0.139	0.087	0.086
	SE	0.069	0.038	0.004	*	0.013	*	0.076	*	0.016	*	0.021	0.015	*	0.001	0.047	0.014	0.002	*	0.035	*	0.014	0.036	0.029	0.016
ED ³	n	6	2	2	1	6	1	2	1	5	1	9	2	1	10	2	6	11	1	2	1	7	5	15	2
	$\bar{X}_{0.04}$	0.938	0.847	0.734	0.906	0.877	0.916	0.948	0.745	0.800	0.550	0.846	0.912	0.893	0.660	0.965	0.786	0.691	0.766	0.823	0.624	0.827	0.906	0.894	0.689
	$\bar{X}_{0.06}$	0.918	0.833	0.673	0.866	0.841	0.890	0.934	0.674	0.734	0.449	0.802	0.878	0.848	0.587	0.951	0.729	0.628	0.715	0.769	0.525	0.779	0.880	0.865	0.600
	SE	0.050	0.059	0.058	*	0.026	*	0.047	*	0.019	*	0.029	0.023	*	0.022	0.008	0.026	0.028	*	0.049	*	0.041	0.040	0.026	0.061
	LSM _{0.06}	0.927	0.895	0.689	0.883	0.849	0.812	0.949	0.690	0.731	0.496	0.790	0.912	0.762	0.604	0.865	0.750	0.644	0.777	0.824	0.572	0.785	0.877	0.839	0.647
	SE	0.036	0.074	0.062	0.085	0.038	0.086	0.064	0.085	0.041	0.087	0.032	0.063	0.111	0.033	0.085	0.038	0.032	0.094	0.065	0.087	0.035	0.040	0.026	0.065
	$\bar{X}_{0.08}$	0.901	0.821	0.630	0.831	0.812	0.869	0.920	0.620	0.681	0.379	0.767	0.849	0.811	0.538	0.939	0.686	0.585	0.677	0.725	0.453	0.742	0.859	0.843	0.532

¹ a represents the fraction of starch which disappears immediately, expressed in kg kg⁻¹ starch

² c is the fractional degradation rate of the potentially degradable fraction (1 - a), expressed in h⁻¹

³ ED represents starch effective degradability in kg kg⁻¹ starch. ED = a + b × c / (c + k) with k the passage rate from the rumen (0.04, 0.06 and 0.08 h⁻¹)

The least squares means (LSM) were calculated for all the ingredients. The effect of laboratory was taken into account.

⁴ CGF corn gluten feed

The fraction a was lower for corn and sorghum ($\sim 0.25 \text{ kg kg}^{-1}$ starch), whereas it ranged from 0.40 to 0.70 kg kg^{-1} starch for the rapidly degrading starch feedstuffs. The rate of starch degradation (c) ranged from 0.05 h^{-1} for corn and sorghum to more than 0.30 h^{-1} for wheat. Intermediate rates of degradation (0.08 - 0.15 h^{-1}) were recorded for legumes and tuber starch. There were some significant correlations among a, c and ED. The highest correlation was between soluble starch (fraction a) and starch degradability. Indeed, the small particles lost through the pores of the bags were considered to be immediately degraded, which obviously enhanced ED. The regression predicting ED from soluble starch was based on 250 observations: **ED = 0.534 + 0.51 a** ($n = 250$, $R^2 = 0.61$, $rsd = 0.11 \text{ kg kg}^{-1}$ starch). This equation could be used to predict starch ED across ingredients, although the prediction is less accurate for the lowest values of the soluble fraction (a). The parameters b and c were related but only with an analysis within experiments. In that case c increased by 0.023 h^{-1} when fraction b decreased by 0.1 kg kg^{-1} starch.

Table 2

Mean starch content (g kg^{-1} DM) for various feedstuffs

	$\bar{X}$	SD
Corn	703.9	47.7
Sorghum	723.4	47.9
Barley	578.2	47.4
Wheat	675.5	47.6
Oats	446.0	47.6
Brewers grains	54.2	47.9
Hominy fed	553.2	48.1
Corn Gluten Meal	171.7	47.7
Corn Gluten Feed	205.6	47.9
Triticale	607.9	47.9
Rice	614.2	48.1
Ricebran	278.7	48.0
Peas	484.6	47.6
Beans	418.0	47.5
Soybean seeds	52.7	48.1
Soybean meal	32.0	47.9
Potato	691.2	47.9
Manioc	743.1	49.3

Starch content for the different feedstuffs was calculated with a GLM model with laboratories and ingredients as qualitative variables. Data were extracted from **Novus, 1996** and came from different countries and organizations (ACV, ADAS, CVB, DLG, FEDNA, INRA, PROTECTOR, SETNA, SOUCI, UK-MAFF, WPSA). The feed base developed by AFZ (Association Française de Zootechnie, France, 2000) was also used.

Table 2 depicts the starch contents of the most common feedstuffs (g kg^{-1} DM). The effect of laboratory was highly significant ($P < 0.001$, $sd_{lab} = 65 \text{ g kg}^{-1}$ DM). The data on starch content and ED allowed the determination of the probable amount of ruminally degraded and undegraded starch for the different feedstuffs (Fig. 1.).

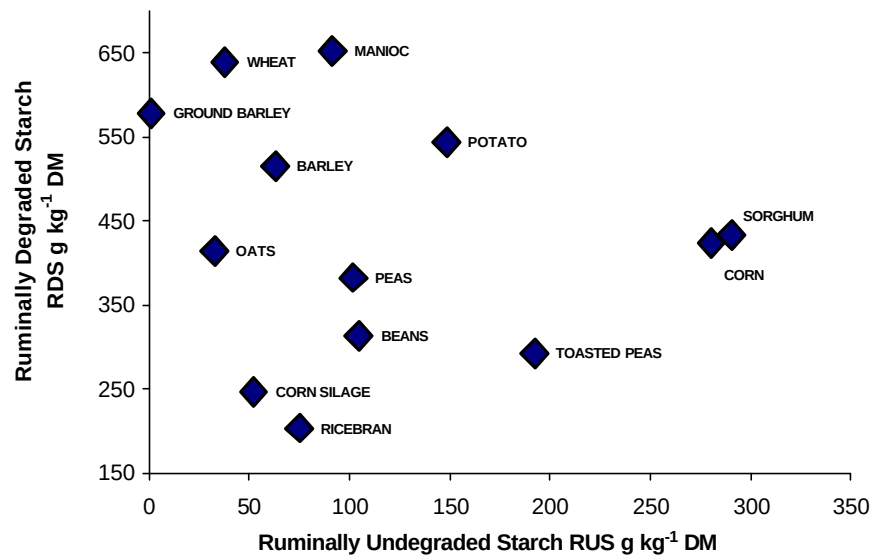


Fig. 1. Contents of ruminally degraded and undegraded starch.

3.2. Effect of processing

Nine different technological treatments were subject to investigation. Particle size reduction (cracking and grinding), thermal effects (toasting, steam flaking) and shear forces (extrusion) were the most commonly used. In the case of treated ingredients, the differences between arithmetic means and least squares means were more noticeable (generally, around 3 to 15%). These differences pointed out the necessity of accounting for the LAB effect but may also be due to some interactions between LAB and RM. Table 3 summarized some treatment effects on starch degradability for 3 groups of raw materials pooled according to their similarity. To study the treatment effects, analyses of variance were conducted on experiments comparing a treated ingredient with its untreated counterpart. They were based on a limited number of observations. Thus, the results were often only tendencies.

Table 3

Mean effect of treatment on starch effective degradability (kg kg^{-1} starch) for 3 groups of raw materials

	Group 1 corn, sorghum			Group 2 wheat, barley			Group 3 pea, beans		
	<i>n</i>	Effect	<i>P</i>	<i>n</i>	Effect	<i>P</i>	<i>n</i>	Effect	<i>P</i>
Ground	3	+ 0.141	0.014	3	+ 0.094	0.116	2	+ 0.081	0.289
Steam-flaked	2	+ 0.276	0.021						
Expanded	4	+ 0.005	0.952	2	- 0.304	0.010			
Extruded	7	+ 0.199	0.079	2	- 0.221	0.120	2	+ 0.075	0.022
Toasted							21	- 0.112	0.017
Formol treated	4	- 0.169	0.057	5	- 0.087	0.172			

n corresponds to the observed number of treated raw materials in this analysis.

In the case of slowly-degrading starch feedstuffs, thermal treatments could largely increase starch ED. For instance, steam flaking increased corn starch ED up to 0.85 kg kg^{-1} starch. In the case of rapidly degrading starch feedstuffs (cereals and legumes), the effect of thermal treatments, such as toasting, flaking, extrusion or expansion, was studied from the available data. The influence of the temperature (*T*) ranging from 20 to 140°C was tested. The regression within experiments provided a good estimate of ED. The effect of temperature was negative, an increase of 10°C in temperature resulted in a decrease in ED of 0.016 kg kg^{-1} starch (Fig. 2.): **ED = $0.837 - 0.0016 T (^{\circ}\text{C})$** ($n = 44$, $n_{\text{exp}} = 19$, $R^2 = 0.82$, $\text{rsd} = 0.096 \text{ kg kg}^{-1}$ starch).

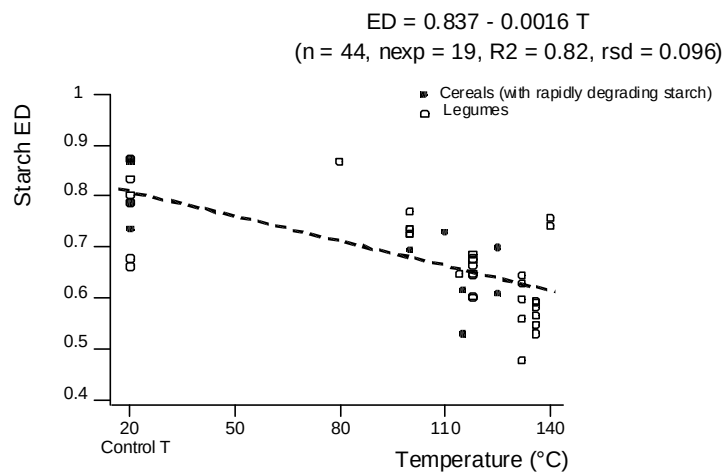


Fig. 2. Within experiments influence of temperature on starch effective degradability for cereals (wheat, barley) and legume plants (pea, bean).

Several authors have mentioned the large effect of particle size reduction on starch digestibility in the rumen (Sauvant 2000). Unfortunately, only few experiments reported the mean particle size of feed samples. The linear regression within experiments (Fig. 3.) was accurate: **ED = 0.872 - 0.157 MPS (mm)** ($n = 26$, $n_{exp} = 6$, $R^2 = 0.92$, $rsd = 0.072$ kg kg⁻¹ starch). Grinding led to significant increases of the soluble fraction (a) and also of the rate of degradation (c) as shown in Table 1.

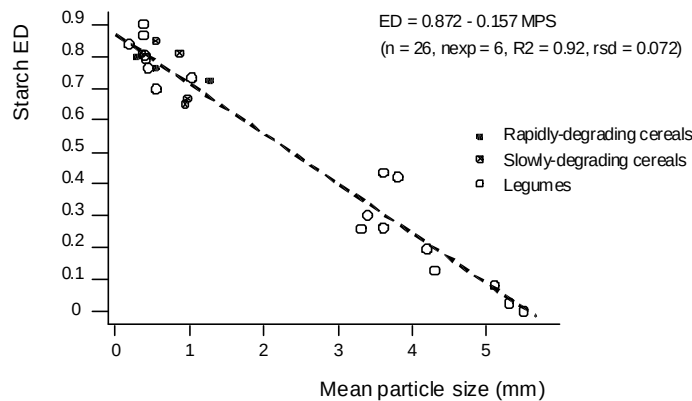


Fig. 3. Within experiments influence of feed mean particle size on starch effective degradability.

4. Discussion

4.1. Feedstuffs variability

The results underlined the wide range of the intrinsic degradation capabilities of the feedstuffs. It is well known that the extent of starch degradation is dependent on its nature and its structure. Crystal pattern, granule size and shape, amylose and amylopectin content, presence of a protein matrix are the main factors characterizing starch for each plant species (French 1973). The variations in the extent and the site of starch degradation affect the quality and the quantity of the nutrients delivered to the animal. The values of ruminally degraded and undegraded starch present an interest in diet formulation, as it may affect various animal responses. For instance, there is a negative relationship between the amount of ruminally degraded starch and rumen pH (Sauvant 1999).

The tabulations of starch ED presented by Nocek and Tamminga (1991) and by Sauvant et al. (1994) have been compared with our values (Table 1) for the main raw materials ($n = 14$). There was no systematic bias and our results were consistent with the observations of Nocek and Tamminga (1991) ($R^2 = 0.90$, $rsd = 0.038$ kg kg⁻¹ starch) and Sauvant et al. (1994) ($R^2 = 0.83$, $rsd = 0.047$ kg kg⁻¹ starch). The only value that was slightly

different was potato starch ED with a degradability ranging from 0.593 to 0.785 kg kg⁻¹ starch. This may be explained by the different origins of potato starch. For instance, starch coming from potato by products (potato pulp) tended to be more soluble.

The tabulated values provided actualized inputs for some rumen models (Dijkstra 1993; Lescoat and Sauvant 1995). These models, based on *in situ* degradation characteristics, are capable of integrating and valorizing the presented data. Further investigations will be conducted to compare the *in situ* starch degradability with results from *in vivo* digestibility experiments.

4.2. Methodological aspects

The *in situ* technique is a simple and direct technique. Reviews (Huntington and Givens 1995; Nozière and Michalet-Doreau 2000) have detailed its possible sources of variation and limitations. Firstly, some authors (Nocek 1988; Michalet-Doreau and Ould-Bah 1992) have shown that the microbial population inside the bag can differ from that of the surrounding rumen digesta. The confining conditions of the feed in the bag could therefore lead to differences in quantity and activity of the microorganisms. Consequently, some negative digestive interactions may occur into the nylon bags (Sauvant et al. 1994). Secondly, a transient storage of starch in microbial cells (bacteria and protozoa) may take place. Thus, a significant amount of starch included into microbial matter can remain in the bag residue. Microbial contamination impact is typically ignored for starch *in situ* degradation and our results did not correct *in situ* residues for that possible contamination. Finally, the grinding screen size used during the *in situ* technique affected significantly the feed mean particle size, the initial losses (Michalet-Doreau and Cerneau 1991) and consequently the feed degradability. Research to evaluate the effect of chewing on particle size reduction *in vivo* would improve the accuracy of the *in situ* predictions (Ewing and Johnson 1987). However, the decrease in particle size during chewing could be considered as negligible for concentrate (Michalet-Doreau et al. 1992).

Dewhurst et al. (1995) observed an overestimation of organic matter fermentability with the *in situ* technique compared to the *in vitro* technique. The use of the *in situ* technique for concentrate with a high content of soluble matter or very fine particles was not recommended. The loss of fine particles tended to increase the fraction a. This fraction is then considered to be entirely soluble although it may contain insoluble small particles. The insoluble starch form of the fraction a can be determined (Südekum et al. 1996) to correct for loss of particle. Nocek and Tamminga (1991) suggested that 10% of the starch washed out of the bag would escape rumen degradation. Thus, the relationship that we have observed between ED and the fraction a should be interpreted with caution.

The adjustment of the *in situ* degradation kinetics with the first order model of Ørskov

and McDonald (1979) was fairly accurate. However, some high coefficients of variation were reported for ED of slowly degraded starch. To get better results, the fraction *a* could be divided into two compounds as stated above: soluble, insoluble. In the case of slowly degraded starch, an undegraded fraction of starch could be added to the model, contrary to the assumption stated ($a + b = 1$). It may also be interesting to include a lag phase in the model. Mertens and Loftén (1980) and Dhanoa (1988) introduced a discrete lag phase to model degradation kinetics of fibre. In few cases, such a model was used for corn starch degradation kinetics (Philippeau et al. 2000). The first order model and the Gompertz-like model, which corresponds to a progressive lag phase, have been compared (Sauvant et al. 1985; van Milgen and Baumont 1995; Susmel et al. 1999). The Gompertz model was more biologically appropriate to account for the increase in microbial activity from the onset of the process. No recommendation however was clearly made regarding the choice of the most appropriate model. The model of Ørskov and McDonald (1979) remains the most commonly used for the kinetics of starch degradation.

Determination of starch ED for corn silage has not been subject to many investigations. The tabulated ED value for corn silage could be criticized. In that case, the model of Ørskov and McDonald (1979) could be inadequate because of the almost linear kinetics. There could be a bias on the determination of *in situ* parameters (*a*, *c*) however, the degradability resulting of Ørskov or Mertens models is similar (Chapoutot 1998). On the other hand, starch ED of corn silage is affected by the genotype (grain vitreousness) and the maturity of the plant (Philippeau and Michalet-Doreau 1997). Thus, the level of dry matter content largely influenced its degradability.

The low repeatability and the lack of reproducibility of the *in situ* technique were often criticized. In the database, variations across laboratories were noticeable. This was the reason why a laboratory effect must be taken into account. The coefficients of variation of ED estimates were then reduced. It is interesting to notice the lack of interaction between feed and laboratory, which means that the ranking of the feeds is similar for the different laboratories. The laboratory effect explained part of the variability but the identification of some more specific causes of this effect was unfortunately not possible. Vanzant et al. (1998) suggested a standardized procedure to reduce the variations within and across laboratories. Indeed, in order to use the data in feeding systems, as much as possible accurate measurements of starch degradability are required. In the case of protein degradability, a ring test on 23 laboratories (5 feeds) was performed with a standard procedure. Even after the methods standardization, a large variability was observed (Madsen and Hvelplund 1994). The standard deviations for protein ED ranged from 0.06 to 0.11 kg kg⁻¹ protein, which was comparable to our observations on starch. Differences among

laboratories could be due to the animal and its diet or to the samples preparation and manipulation. This can also be related to problems associated with protein determination. In the case of starch as well different methodologies are used for starch determination and many parameters of the extraction and gelatinisation procedures can strongly affect the analytical results (Hall et al. 2000). Thus, in the analysis of variance conducted for the determination of starch content (Table 2), the laboratory effect was not only significant but also surprisingly high with a standard deviation of 86 g kg⁻¹ DM. This highlighted the importance to standardize the methodologies used for starch determination.

4.3. Effect of processing

Most of the technological treatments increased starch degradability, mainly by particle size reduction, gelatinisation and protein matrix disruption. Particle size reduction increased the starch available to either rumen microbes or digestive enzymes or solubilisation. Gelatinisation led to chemical and physical changes in the starch granule. The disruption of hydrogen bounds and the water absorption facilitated microbial or enzyme degradation of the granule. The reasons for the lower degradation observed with toasted peas or beans were possibly the formation of complexes between starch and protein, indeed the soluble fraction of starch and protein decreased (Goelema 1999). Toasting may also reduce the washable fraction with the formation of retrograded starch (Goelema 1999). Retrogradation may occur when the gelatinised starch is cooled and leads to the formation of secondary resistant starch. Large differences between steam rolling and steam flaking were observed. Steam rolling resulted rather in a limited decrease of starch degradability, steam flaking however largely increased starch degradability. This can be related to the differences in the processing time (less than 15 min for steam rolling) and in the applied pressure (minimal for steam rolling). However, the possible differences affecting the physical or chemical changes in starch were not yet accurately studied. Large differences between expansion and extrusion were also observed. These treatments mainly differ in their processing time (expansion 5 – 30 s / extrusion 30 – 150 s) and the temperature is generally slightly higher for extrusion. Shear action is much less during expansion than extrusion. These two treatments increased starch degradability of slowly degraded starch but on the contrary, they decreased starch degradability of rapidly degraded starch. The variable responses of processing could not be explained clearly. Generally, the responses are greater for corn and sorghum, which have starch bound with insoluble protein.

Some of the results presented should be interpreted carefully because of the limited number of observations. Some large corrections between means and least squares means ED were observed in some cases and could be questionable when the raw materials were analysed by few laboratories. Unfortunately, the conditions of the treatments: temperature,

duration, pressure are often not well documented by the authors. Therefore, the influences of the various processes could not be yet accurately modelled.

5. Conclusion

The results pointed out the large variability in starch degradation among various feedstuffs. The effect of processing was also outlined, as it appeared to have a large effect on starch degradation in the rumen. Factors that had a noticeable influence include temperature and mean particle size. This review tried to be as exhaustive as possible on the effect of processing on starch ED. Considering the limited numbers of observations, however, the results should be considered carefully. Attention paid to the laboratory effect outlined the variations across laboratories and the need to standardize *in situ* techniques for starch.

The values presented on starch degradation are useful, especially to implement rumen models where *in situ* data are often required. Quantitative information on ruminal starch digestion could also be interesting for the feed evaluation and diet formulation systems.

References

- Baldwin, R.L., Thornley, J.H., Beever, D.E., 1987. Metabolism of the lactating cow: II. Digestive elements of a mechanistic model. *J. Dairy Res.* 54, 107-131.
- Chamberlain, D.G., Thomas, P.C., Wilson, W., Newbold, C.J., McDonald, J.C., 1985. The effects of carbohydrate supplements on ruminal concentrations of ammonia in animals given diets of grass silage. *J. Agric. Sci. Camb.* 104, 331-340.
- Chapoutot, P., 1998. Etude de la dégradation *in situ* des constituants pariétaux des aliments pour ruminants. Thèse de docteur de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon, France.
- Dewhurst, R.J., Hepper, D., Webster, A.J.F., 1995. Comparison of *in sacco* and *in vitro* techniques for estimating the rate and extent of rumen fermentation of a range of dietary ingredients. *Anim. Feed Sci. Technol.* 51, 211-229.
- Dhanoa, M.S., 1988. On the analysis of dacron bag data for low degradability feeds. *Grass Forage Sci.* 43, 441-444.
- Dijkstra, J., 1993. Mathematical modelling and integration of rumen fermentation processes. Ph.D. Thesis. Wageningen Agricultural University, Netherlands, 221 pp.
- Ewing, D.L., Johnson, D.E., 1987. Corn particle size digestion, passage and size reduction in beef steers: a dynamic model. *J. Anim. Sci.* 64, 1194-1204.
- French, D., 1973. Chemical and physical properties of starch. *J. Dairy Sci.* 37, 1048-1061.

- Goelema, J.O., 1999. Processing of legume seeds: effects on digestive behaviour in dairy cows. Ph.D. Thesis. Wageningen Agricultural University, Netherlands, 221 pp.
- Hall, M.B., Jennings, J.P., Lewis, B.A., Robertson, J.B., 2000. Evaluation of starch analysis methods for feed samples. *J. Sci. Food Agric.* 81, 17-21.
- Huntington, J.A., Givens, D.I., 1995. The in situ technique for studying the rumen degradation of feeds: a review of the procedure. *Nutr. Abstr. Rev. (Series B)* 65, 2, 63-93.
- INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), 1989. Ruminant Nutrition. Recommended Allowances and Feed Tables. INRA and John Libbey Eurotext, Paris.
- Lescoat, P., Sauvant, D., 1995. Development of a mechanistic model for rumen digestion validated using the duodenal flux of amino acids. *Reprod. Nutr. Dev.* 35, 45-70.
- Madsen, J., Hvelplund, T., 1994. Prediction of in situ protein degradability in the rumen. Results of a European ringtest. *Livestock Prod. Sci.* 39, 201-212.
- Mertens, D.R., Lofton, J.R., 1980. The effect of starch on forage fiber kinetics in vitro. *J. Dairy Sci.* 63, 1437-1446.
- Michalet-Doreau, B., Cerneau, P., 1991. Influence of foodstuff particle size on in situ degradation of nitrogen in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 35, 69-81.
- Michalet-Doreau, B., Ould-Bah, M.Y., 1992. In vitro and in sacco methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 40, 57-86.
- Michalet-Doreau, B., Cerneau, P., Dardillat, C., 1992. Comparaison de la granulométrie du bol mastiqué et de l'aliment broyé à différentes grilles: incidence sur la méthodologie des mesures in sacco. *Ann. Zootech.* 41, 11-12.
- Nocek, J.E., 1988. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: A Review. *J. Dairy Sci.* 71, 2051-2069.
- Nocek, J.E., Tamminga, S., 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 74, 3598-3629.
- Novus, Intern., 1996. Raw Material Compendium, a compilation of worldwide data sources. 2nd edition. Brussels, Belgium.
- Nozière, P., Michalet-Doreau, B., 2000. In sacco methods. In: D'Mello, J.P.F. (Ed.), *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. CAB International, UK, pp. 233-253.
- NRC (National Research Council), 1988. Nutrient requirements of dairy cattle. National Academy Press, Washington, DC.
- Ørskov, E.R., 1986. Starch digestion and utilization in ruminants. *J. Anim. Sci.* 63, 1624-1633.

- Ørskov, E.R., McDonald, I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci. Camb.* 92, 499-503.
- Philippeau, C., Michalet-Doreau, B., 1997. Influence of genotype and stage of maturity of maize on rate of ruminal starch degradation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 68, 25-35.
- Philippeau, C., Landry, J., Michalet-Doreau, B., 2000. Influence of the protein distribution of maize endosperm on ruminal starch degradability. *J. Sci. Food Agric.* 80, 404-408.
- Sauvant, D., 1999. Influences of feeding level and type of starch on its digestion in cattle. *Sci. Aliments.* 19, 499-503.
- Sauvant, D., 2000. Granulométrie des rations et nutrition du ruminant. *INRA Prod. Anim.* 13, 99-108.
- Sauvant, D., Bertrand, D., Giger, S., 1985. Variations and prevision of the in sacco dry matter digestion of concentrates and by-products. *Anim. Feed Sci. Technol.* 13, 7-23.
- Sauvant, D., Chapoutot, P., Archimède, H., 1994. La digestion des amidons par les ruminants et ses conséquences. *INRA Prod. Anim.* 7, 115-124.
- Sniffen, C., O'Connor, J., Van Soest, P., Fox, D., Russell, J., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70, 3562-3577.
- St-Pierre, N.R., 2001. Invited review: integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. *J. Dairy Sci.* 84, 741-755.
- Südekum, K.-H., Thordsen, J.P., Stangassinger, M., 1996. Effect of wheat silage maturity on in situ degradation of organic matter, crude protein, starch and fibre. *J. Appl. Anim. Res.* 10, 1-14.
- Susmel, P., Spanghero, M., Stefanon, B., 1999. Interpretation of rumen degradability of concentrate feeds with a Gompertz model. *Anim. Feed Sci. Technol.* 79, 223-237.
- Tamminga, S., Van Straalen, W.M., Subnel, A.P.J., Meijer, R.G.M., Steg, A., Wever, C.J.G., Blok, M.C., 1994. The Dutch protein evaluation system: the DVE/OEB-system. *Livestock Prod. Sci.* 40, 139-155.
- van Milgen, J., Baumont, R., 1995. Models based on variable fractional digestion rates to describe ruminal in situ digestion. *Br. J. Nutr.* 73, 793-807.
- Vanzant, E.S., Cochran, R.C., Titgemeyer, E.C., 1998. Standardization of in situ techniques for ruminant feedstuff evaluation. *J. Anim. Sci.* 76, 2717-2729.
- Vérité, R., Michalet-Doreau, B., Chapoutot, P., Peyraud, J.L., Poncet, C., 1987. Révision du système des protéines digestibles dans l'intestin (P.D.I.). *INRA Theix, Bull. Tech. C.R.Z.V.* 70, 19-34.

2. Prediction of *in vivo* starch digestion in cattle from *in situ* data

Article accepté pour publication dans **Animal Feed Science and Technology**.

Prediction of *in vivo* starch digestion in cattle from *in situ* data

Anne Offner, Daniel Sauvant *

UMR Physiologie de la Nutrition et Alimentation, Institut National de la Recherche Agronomique, 16 rue Claude Bernard, 75231 Paris Cedex 05, France

* Corresponding author. Tel.: +33-144-081-762; fax: +33-144-081-853.

E-mail address: sauvent@inapg.inra.fr (D. Sauvant).

Abstract

Rate and site of starch digestion are important in terms of nutrient availability in ruminants. The objective was to predict starch digestion in the rumen and intestines of cattle based on the *in situ* technique. A database with *in vivo* observations of starch digestibility was collected from 87 references involving 316 treatments on cattle (47% with lactating cows). *In situ* values of feeds from Offner et al. (2003) were used to calculate the effective degradability (ED, kg/kg starch) for each diet. For treatments with reliable ED ($n = 179$), the equation predicting starch digestibility in the rumen (Rd, kg/kg starch) from ED was: $Rd = 0.302 + 0.59 \times ED$ ($r^2 = 0.28$, $rsd = 0.138$ kg/kg starch). Experiment explained about 50% of the residual variation: $Rd = 0.263 + 0.63 \times ED$ ($n = 179$, $n_{exp} = 84$, $r^2 = 0.92$, $rsd = 0.061$ kg/kg starch). Dry matter intake, expressed as a percentage of live weight (DMI, % LW), also improved the accuracy of the prediction: $Rd = 0.439 + 0.68 \times ED - 0.083 \times DMI$ ($n = 179$, $R^2 = 0.47$, $rsd = 0.119$ kg/kg starch). The effect of other factors was investigated. Starch digestibility in the small intestine (SId, kg/kg RES) could be predicted from the amount of rumen escape starch (RES, kg/kg DM): $SId = 0.740 - 1.22 \times RES$ ($n = 51$, $n_{exp} = 18$, $r^2 = 0.91$, $rsd = 0.108$ kg/kg RES). Digestion in this organ was influenced by both the quantity and the nature of rumen escape starch. The digestibility in the large intestine was around 0.5 kg/kg ileal starch and increased with DM intake. A compensatory role of the intestines was outlined in the study. Equations predicting starch digestibility in the rumen, small intestine and large intestine were then validated on the whole dataset. This study provides original information to allow empirical prediction of starch digestion in ruminants.

Keywords: ruminant; starch; digestion; *in situ* degradation;

Abbreviations:

DM, dry matter; ED, *in situ* effective degradability of starch (kg/kg starch); Id, digestibility of starch in the intestines (kg/kg RES); k_p , passage rate of particles out of the rumen (/h); LI, large intestine; LIId, digestibility of starch in the large intestine (kg/kg ileal starch); LW, live weight (kg); n, number of treatments in a dataset; n_{exp} , number of experiments in a dataset; OM, organic matter; Rd, digestibility of starch in the rumen (kg/kg starch); RES, rumen escape starch (kg/kg DM); SI, small intestine; SId, digestibility of starch in the small intestine (kg/kg RES); TTD, digestibility of starch in the total tract (kg/kg starch); VFA, volatile fatty acids.

1. Introduction

Starch represents up to 50% of dietary dry matter (DM) in high producing growing and lactating cattle (Campling, 1991). The rumen is the main site of starch digestion, where 60 to 95% of the starch intake is fermented to volatile fatty acids (VFA) and gas or incorporated into microbial matter (Ørskov, 1986; Nocek and Tamminga, 1991; Russell et al., 1992; Sauvant et al., 1994). Enzymatic digestion of rumen escape starch (RES) occurs in the small intestine where absorption of glucose could be an energetically more efficient process than utilization of VFA from the rumen (Owens et al., 1986; Reynolds et al., 2001). Nevertheless, digestion in the small intestine might be limited by insufficient time of exposure of starch granules to enzymes and/or inadequate access to enzyme (Owens et al., 1986). The large intestine is the last stage of the digestive system and starch escaping from it is excreted in faeces. In ruminants, the site of starch digestion mainly determines partition of organic matter (OM) digestion and has an impact on DM intake, rumen status and milk yield and composition (Sauvant, 1997). The *in situ* technique has been used to predict starch degradation in the rumen (Nocek and Tamminga, 1991; Sauvant et al., 1994), and results have revealed wide differences in starch degradation among feedstuffs. Recently, a much larger evaluation of data based on *in situ* starch degradation was performed by Offner et al. (2003).

The objective of this study was to compare *in situ* data with *in vivo* observations and to develop prediction equations of *in vivo* starch digestion.

2. Materials and methods

2.1. In vivo database

A database with *in vivo* observations was derived from 87 publications involving 316 treatments corresponding to 127 studies with growing, mature and lactating cattle. Dairy cattle were represented in 47% of the treatments. Animals were equipped with ruminal and duodenal cannulas. To be included in the base, a publication had to provide data on starch digestibility in the rumen (Rd, kg/kg starch). Fifty-two of the treatments corresponded to 26 trials where the experimental purpose was to compare two starch types: rapidly degrading starch, often barley grain, and slowly degrading starch, generally corn or sorghum grain. Various parameters, including diet composition, animal characteristics (live weight (LW), DM intake), indicators of rumen status (VFA, pH) and starch digestibility in the intestines, were entered in the database when provided in the article.

2.2. Calculation of the effective degradability of the diets

Studies with cattle where both *in vivo* starch digestion and *in situ* starch degradation

were measured are limited (Yang et al., 1997ab; Surber and Bowman, 1998). Therefore, for each diet, *in situ* effective degradability (ED, kg/kg starch) was calculated with the following formula: $ED = \sum p_i \times ED_i$, where p_i represents the proportion of dietary starch provided by feedstuff i ($0 < p_i < 1$, $\sum p_i = 1$). For estimation of p_i , the starch content of the feedstuffs was either directly taken from the article or calculated from a compilation of 12 tables of feed composition (Offner et al., 2003). The ED_i represents starch effective degradability for feedstuff i , calculated according to the equation of Ørskov and McDonald (1979). Values were taken from the *in situ* database of Offner et al. (2003). The ED_i of within experiment analyses were preferred when feedstuffs had more than three observations. Because ED values for treated cereals, such as high moisture cereals, rolled wheat, steam-flaked sorghum or hull-less barley were missing, values of the untreated feedstuff were used. Thus, 162 of the 368 *in vivo* observations reflected diets containing a feed with estimated *in situ* data. For prediction of ruminal starch digestion, the whole data set, as well as observations with measured *in situ* data, were considered. Data for the 26 studies comparing two starch types were analysed separately. For the fractional passage rate of the feed (k_p), another important factor in calculating ED, either a constant value of 0.06 /h or a value depending on DM intake was used (Sauvant and Mertens, *unpublished*). In the latter case, the following formulae for forages and concentrates were used:

$$k_{p \text{ forage}} = 0.021 + 0.007 \times \text{DMI, \% LW} \quad (n = 138, r^2 = 0.141, \text{rsd} = 0.012 \text{ /h})$$

$$k_{p \text{ concentrate}} = 0.018 + 0.014 \times \text{DMI, \% LW} \quad (n = 85, r^2 = 0.269, \text{rsd} = 0.016 \text{ /h})$$

For the whole database ($n = 316$), the calculated k_p value for forage was 0.039 ± 0.006 /h, ranging from 0.027 to 0.052 /h, and the k_p value for concentrate was 0.053 ± 0.012 /h, ranging from 0.030 to 0.078 /h. Ranges of values were close to those proposed by Poncet et al. (1995).

2.3. Statistical meta-analyses

Starch digestibility measured in the rumen (R_d , kg/kg starch) was first predicted from *in situ* starch degradability (ED, kg/kg starch) using a simple regression: $R_{dij} = \mu + a \times ED_i + e_{ij}$. The residual e_{ij} was analyzed to examine the effect of related factors. In another approach, a general linear model analysis was carried out to account for variation among studies α_i : $R_{dijk} = \mu + \alpha_i + a \times ED_j + e_{ijk}$. Global and within study approaches were applied and discussed according to principles reported by St-Pierre (2001). All data were used for the analyses unless otherwise stated. No weighting of the treatments was applied because the number of treatments (n) and experiments (n_{exp}) were high.

3. Results

3.1. Relationships between *in situ* and *in vivo* starch digestibility

Experiments in the *in vivo* database ($n = 316$) covered a wide range of feeding situations. The DM intake ranged from 2.6 to 15.0 kg per day for beef cattle and from 14.3 to 26.9 kg per day for dairy cows. Concentrate proportion of the diets averaged 0.62 ± 0.23 kg/kg DM and starch proportion 0.38 ± 0.16 kg/kg DM. Calculated starch ED for the diets was 0.710 ± 0.138 kg/kg starch and ranged from 0.527 to 0.976 kg/kg starch. Mean observed starch Rd was 0.717 ± 0.176 kg/kg starch and it ranged from 0.273 to 0.988 kg/kg starch. For the 26 experiments comparing two starch types, there was a difference ($P < 0.001$) between the rapidly (0.789 ± 0.148 kg/kg starch, range: 0.448 - 0.956) and the slowly (0.627 ± 0.164 kg/kg starch, range: 0.315 - 0.917) degrading starch feedstuffs.

Table 1

Global regressions and within experiments models^a predicting *in vivo* starch digestibility in the rumen (Rd, kg/kg starch) from *in situ* degradability (ED, kg/kg starch)

Database	k_p ^b	Stat. analyses ^a	Equation	n_{exp} ^c	n	r^2	rsd	eq.
Whole dataset	Estimated	G	$0.286 + 0.59 \text{ ED}$		314	0.222	0.147	(1)
		W	$0.296 + 0.57 \text{ ED}$	127	314	0.886	0.073	(1')
	0.06 /h	G	$0.369 + 0.50 \text{ ED}$		314	0.169	0.152	(2)
		W	$0.325 + 0.55 \text{ ED}$	127	314	0.887	0.072	(2')
Measured <i>in situ</i>	Estimated	G	$0.139 + 0.77 \text{ ED}$		177	0.387	0.128	(3)
		W	$0.208 + 0.68 \text{ ED}$	84	177	0.924	0.062	(3')
	0.06 /h	G	$0.302 + 0.59 \text{ ED}$		179	0.280	0.138	(4)
		W	$0.263 + 0.63 \text{ ED}$	84	179	0.924	0.061	(4')

^a global regressions (G) or within experiments analyses (W) integrating the experimental effect as a qualitative factor

^b fractional outflow rate of particles

^c number of experiments

Regressions predicting Rd from ED are in Table 1. The global regressions (1 to 4) were significant ($P < 0.001$) with r^2 values ranging from 0.17 to 0.39. The slope of the regressions was lower than 1 in each case. The residual variability appeared larger with slowly degrading starch diets (corn and sorghum grain based diets) than with rapidly degrading ones. The regressions had a higher r^2 when only data with reliable *in situ* values were used and when a variable instead of a constant k_p was used. In any case, residual standard deviations of the global regressions were fairly large. Residual values were

normally distributed and the proportion of normalized residues higher than 2 ranged from 2.3 to 7.3%.

Residual variation was largely explained by the experimental effect, of which standard deviation was about 0.20 kg/kg starch. Therefore a general linear model accounting for this experimental effect was applied (1' to 4'). Regression coefficients remained similar to those of the global regressions, whereas residual variation decreased greatly and r^2 values were much higher. As the error in estimating ED was mainly caused by variations among studies, the improvement achieved by taking into account only measured *in situ* data was smaller. The within experiments relationship between Rd and ED is in Fig. 1.

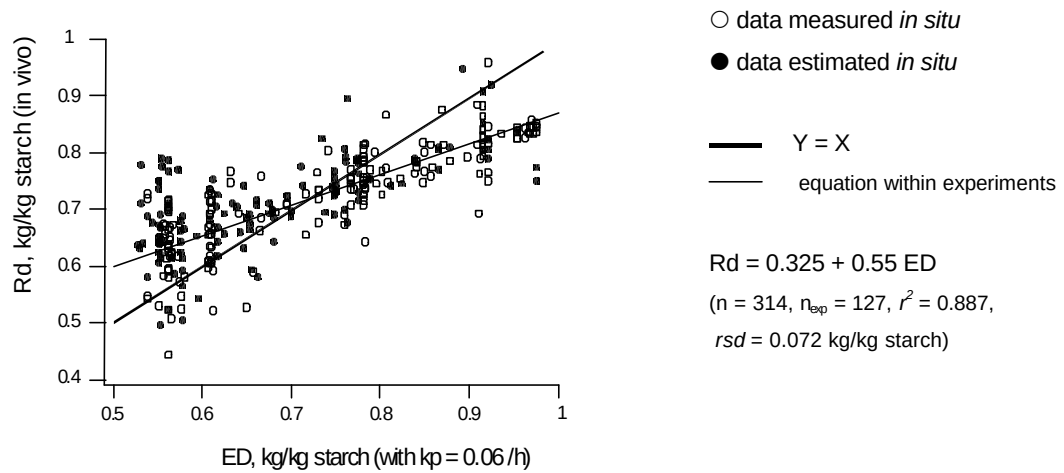


Fig. 1. Within experiments regression between *in vivo* starch digestibility in the rumen and *in situ* predicted values.

Results of 23 experiments comparing two types of starch with ED differences over 0.05 kg/kg starch are in Fig. 2. There was an interaction between the study effect and the covariable ED: the slope between slowly and rapidly degradable starches was steeper when starch digestion in the rumen was lower. This interaction could be quantified and tested if the study effect (qualitative variable) was replaced by a quantitative factor (T). Each study is represented by a connecting line in Fig. 2. For each line, the intersection (Rd_T) with a constant value of ED corresponding to the mean value of the trials ($ED = 0.731$ kg/kg starch) was determined. T was then calculated by difference between Rd_T and mean Rd_T (0.739 kg/kg starch). By construction, T was a centered quantitative variable ($T = \pm 0.119$ kg/kg starch).

$$Rd = 0.291 + 0.61 ED + 2.85 T - 2.59 \times T \times ED \quad (5)$$

($n = 46$, $R^2 = 0.94$, $rsd = 0.041$ kg/kg starch)

All terms of equation (5) were highly significant ($P < 0.001$), the last stressed the interaction between T and ED. The residual standard deviation was much lower than any in Table 1.

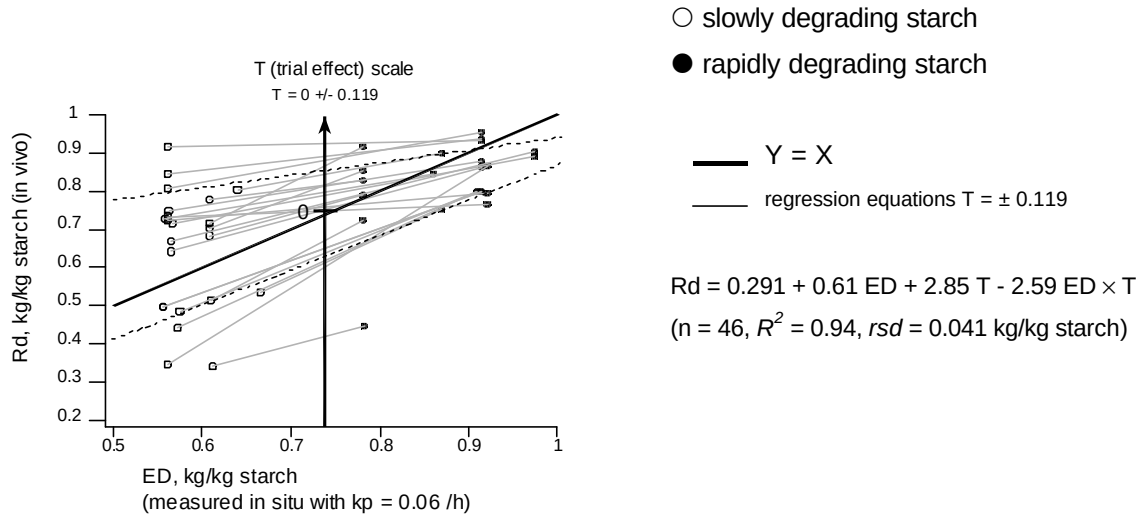


Fig. 2. Relationship between *in vivo* and *in situ* starch digestibility for experiments comparing two starch types.

For practical purposes, the principle of *in situ* data referenced to a constant value of k_p of 0.06 /h is convenient. Therefore, to investigate the effect of DM intake, equation (4): $Rd = 0.302 + 0.59 ED$ was chosen as a first step (Table 1). The residuals of this equation (e_{ij} [4]) were related ($P < 0.001$) to DM intake as a percentage of LW: $e_{ij} [4] = 0.197 - 0.080 \times DMI$ (Fig. 3). Thus, starch digestibility in the rumen decreased by 0.08 ± 0.01 kg/kg starch for each percentage unit increase of DM intake (% LW). This means that equation (4) overestimated starch digestibility if DM intake was higher than 2.4% LW, while it was the opposite for DM intake under this threshold. As a consequence, a regression equation with ED and DMI as predictors provided a more accurate prediction of *in vivo* digestion than equation (4):

$$Rd = 0.439 + 0.68 \times ED - 0.083 \times DMI \quad (6)$$

(n = 179, $R^2 = 0.468$, $rsd = 0.119$ kg/kg starch)

As variation in ED and DMI were not linked, the coefficient applied to DMI in equation (6) was comparable to the one observed in the residual (Fig. 3). Moreover, the coefficients of this equation did not differ from those of the following equation (7) when all *in vivo* data were used:

$$Rd = 0.572 + 0.47 \times ED - 0.072 \times DMI \quad (7)$$

(n = 315, $R^2 = 0.265$, $rsd = 0.151$ kg/kg starch)

Logically, the accuracy of this last equation was much lower. The effect of DM intake was better captured by global regressions because there was no variation in DM intake within experiments. In equation (5) integrating a study effect with T, a regression analysis pointed out the influence of DMI (% LW) on T: $T = 0.243 - 0.108 \times DMI$ (n = 46, $r^2 = 0.51$, $rsd = 0.084$

kg/kg starch). The regression coefficient of DM intake had the same order of magnitude as the previous ones. Because of the integration of DM intake in the equations, type of animal (i.e., lactating vs. non lactating cattle) had no influence on these analyses.

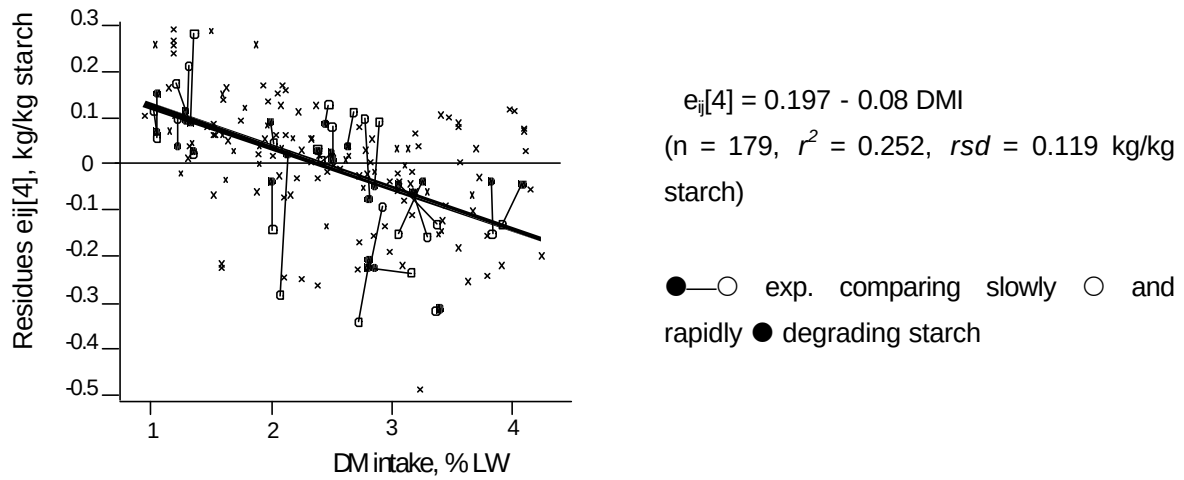


Fig. 3. Relationship between the residuals of equation (4)

$$\text{Rd} = 0.302 + 0.59 \times \text{ED and DM intake.}$$

Subsequently, various measured parameters were tested in an attempt to explain the residual variation in equation (6). Table 2 presents the correlation coefficients and regression equations of some parameters with these residuals. Diet composition, and particularly starch concentration, contributed to explain the residuals. Thus, starch tended to be better digested *in vivo* than predicted from *in situ* data for diets containing more starch (starch content > 0.4 kg/kg DM). However, the integration of both DM intake and starch content did not lead to a significantly better fit than the previous correction with DM intake alone. Residuals of equation (6) were also correlated to some ruminal characteristics, if measured, particularly VFA concentration and pH. Thus, high VFA concentrations ($[\text{VFA}] > 95.5 \text{ mmol/L}$) were associated with underestimated *in situ* predictions of *in vivo* starch digestion. Logically, pH also explained part of the variability with a sign opposite to VFA. Therefore, starch was more digested *in vivo* compared to its *in situ* prediction when the rumen was characterized by a higher VFA concentration and a lower pH. There was no influence of microbial growth efficiency ($n = 119$), partly because the effect of transit time was integrated in the variable DM intake of equation (6). A set of 16 observations (four experiments) reported mean particle size (MPS) of the diet. The predictions with *in situ* data were valid for MPS about 4 mm, but underestimated the digestion when MPS decreased under this threshold (Fig. 4). The slope of the equation is important showing that the underestimation can be large for diets with small particle size. Statistically, MPS was the best correcting factor to improve the prediction of starch digestion (Table 2).

Table 2

Correlations with the residuals of equation (6) predicting starch digestibility in the rumen:
 $0.439 + 0.68 \times ED^a - 0.083 \times DMI^b$

	Correlation coefficients (Pearson)		n	Regression: prediction of $e_{ij}[6]$	<i>rsd</i>
Starch (kg/kg DM)	0.159	*	171	$-0.044 + 0.12 \text{ STARCH}$	0.118
VFA (mmol/L)	0.356	***	114	$-0.191 + 0.002 \text{ VFA}$	0.113
Propionate (mmol/L)	0.231	*	112	$-0.101 + 0.004 \text{ PRO}$	0.116
pH	-0.216	**	142	$0.482 - 0.0787 \text{ pH}$	0.117
RFOM (kg/kg DM) ^c	0.317	***	117	$-0.200 + 0.34 \text{ RFOM}$	0.108
Mean particle size (mm)	- 0.862	***	16	$0.205 - 0.051 \text{ MPS}$	0.044
Eating time (min/d)	- 0.517	*	18	$0.160 - 0.0007 \text{ ET}$	0.083

^a starch effective degradability (kg/kg starch)

^b dry matter intake (% of live weight)

^c amount of truly fermented OM in the rumen per day (kg/kg DM)

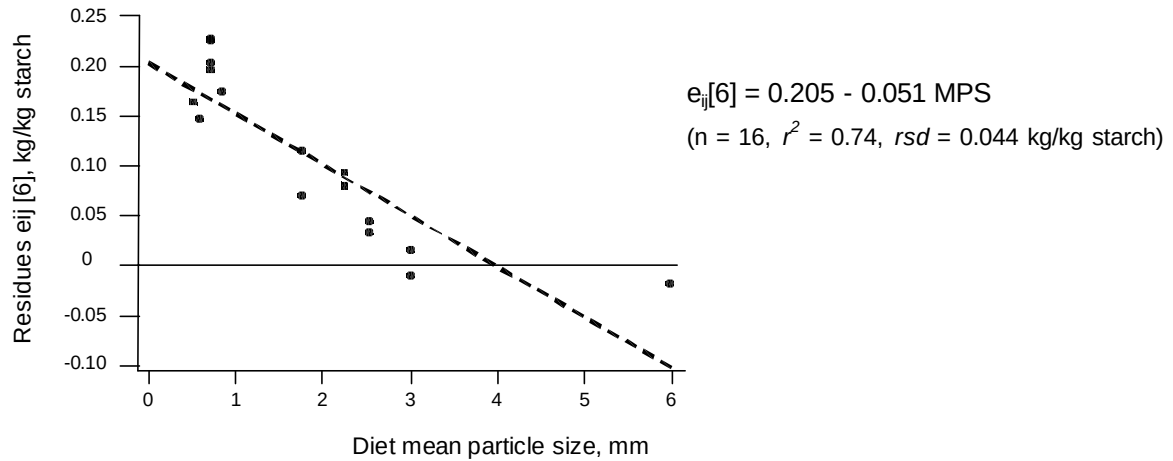


Fig. 4. Relationship between the residuals of equation (6)

$Rd = 0.439 + 0.68 \times ED - 0.083 \times DMI$ and diet mean particle size.

3.2. Prediction of starch digestion in the intestines

A set of 310 treatments provided values on RES. The mean values were 0.102 ± 0.069 kg/kg DM (range: 0.004 - 0.330) and 2.66 ± 2.1 g/kg LW (0.06 - 9.96). For 171 treatments, equation (6) allowed prediction of RES. Observed and predicted RES, expressed

in g/kg LW, were closely linked, with a regression coefficient of 0.82, which did not significantly differ from 1 ($rsd = 1.0$ g/kg LW). Dairy cows represented 45% of the animals in this analysis, but animal type was not significant.

The mean digestibility of RES (Id, kg/kg RES) in the intestines was 0.777 ± 0.170 kg/kg RES ($n = 291$, range: 0.09 - 0.98). A difference ($P < 0.001$) between slowly (0.683 kg/kg RES, $n = 66$) and rapidly degrading starch (0.840 kg/kg RES, $n = 75$) occurred. An analysis within experiments indicated a significant negative relationship between Id and RES expressed in kg/kg DM (Fig. 5). Observations with standardized residuals higher than 3 (1%) were removed for this analysis.

$$Id = 0.833 - 0.419 \text{ RES} \quad (n = 288, n_{\text{exp}} = 118, r^2 = 0.741, rsd = 0.108 \text{ kg/kg RES}) \quad (8)$$

More generally, Id was positively and significantly related to starch digestibility in the total tract ($r^2 = 0.387$). Animal type had no effect on starch digestion in the intestines.

Table 3

Partitioning of starch digestion in the digestive tract

	kg/kg starch intake	kg/kg starch entering the organ	kg/kg total digestible starch
Rumen	0.709 ± 0.182 $n = 381$		0.756 ± 0.175 $n = 293$
Small intestine	0.149 ± 0.103 $n = 72$	0.659 ± 0.267 $n = 72$	0.153 ± 0.106 $n = 51$
Large intestine	0.037 ± 0.056 $n = 72$	0.494 ± 0.182 $n = 55$	0.050 ± 0.070 $n = 51$

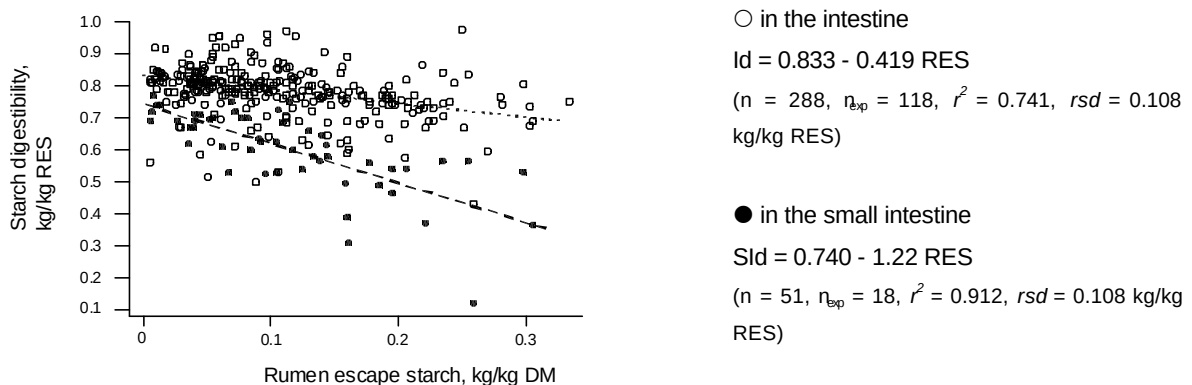


Fig. 5. Within experiments prediction of starch digestibility in the intestine (Id, kg/kg rumen escape starch) and in the small intestine (SId, kg/kg rumen escape starch) from rumen escape starch.

Partition of starch digestion between the small (SI) and large (LI) intestine had been measured in only 72 treatments, which mostly involved non-lactating cattle (70 treatments). Starch digestibility in the small intestine (SId, kg/kg RES) was highly variable: 0.659 ± 0.267 kg/kg RES (Table 3). The SI contributed to total tract starch digestion for 0.149 ± 0.103 kg/kg starch intake, while LI had a lower contribution (0.037 ± 0.056 kg/kg starch intake). Starch digestibility of that entering the LI (LId, kg/kg ileal starch) was only around 0.5 kg/kg ileal starch ($n = 55$, 0.494 ± 0.182 kg/kg ileal starch). Starch digestibility in the whole intestine (Id) appeared related to starch digestibility in both parts of the intestine, particularly with that in SI (Fig. 6):

$$\text{SId} = -0.569 + 1.49 \times \text{Id} \quad (n = 49, r^2 = 0.81, \text{rsd} = 0.121 \text{ kg/kg RES}) \quad (9)$$

$$\text{LId} = 0.249 + 0.32 \times \text{Id} \quad (n = 39, r^2 = 0.11, \text{rsd} = 0.155 \text{ kg/kg ileal starch}) \quad (10)$$

A high Id, over 0.70 kg/kg RES, is the outcome of a higher digestibility in the small intestine compared to the large intestine (Fig. 6). However, an Id under 0.70 kg/kg RES is the result of a low digestibility in the SI (less than 0.45 to 0.50). In this situation, LI had a compensatory effect and starch digestibility in this organ was higher than in SI. In the small intestine, as in the rumen, starch digestion of slowly degrading starch feedstuffs was less efficient (SId = 0.41 ± 0.21 kg/kg RES, $n = 20$, vs. 0.89 ± 0.17 kg/kg RES, $n = 16$, for rapidly degrading starch ingredients). However, for feedstuffs with slowly degrading starch, more starch entered the duodenum, so the quantity of starch digested in the small intestine, expressed in kg/kg starch intake, was higher: 0.184 vs. 0.118. When starch digestibility in the rumen decreased by 0.01 kg/kg starch, the portion of starch digested in the small intestine increased by 0.004 kg/kg starch. There was no global relationship between SId and the other variables considered. However, within experiments, there was a close negative relationship between SId and RES (kg/kg DM) (Fig. 5):

$$\text{SId} = 0.740 - 1.22 \times \text{RES} \quad (n = 51, n_{\text{exp}} = 18, r^2 = 0.912, \text{rsd} = 0.108 \text{ kg/kg RES}) \quad (11)$$

SId decreased to 0.33 kg/kg RES with RES going up to 0.34 kg/kg DM. The amount of starch digested in SI ($\text{RES} \times \text{SId}$) reached a plateau (0.11 kg/kg DM) when RES increased.

In the large intestine, the DM intake (% LW) influenced starch digestibility as in the rumen but in the opposite direction. Because variation in LId ranged between 0 and 1 kg/kg ileal starch, the form of the equation chosen was: $(1/\text{LId}) = 1 + (a/\text{DMI})$. The regression was studied globally as there was no variation in DM intake within experiments.

$$\frac{1}{\text{LId}} = 1 + \frac{2.11}{\text{DMI}} \quad (n = 38, R^2 = 0.818, \text{rsd} = 0.5 / \text{kg/kg ileal starch}) \quad (12)$$

Comparison of the coefficients of equations (8) and (11) also outlined the compensatory role of the hindgut (Figs. 5 and 6). Starch digestibility in the large intestine will be higher for a lower digestibility in the small intestine. Few LId data ($n = 55$) were available and so we

chose to use a mean value for LId of 0.494 kg/kg ileal starch. There was no difference between slowly degrading and rapidly degrading starch types.

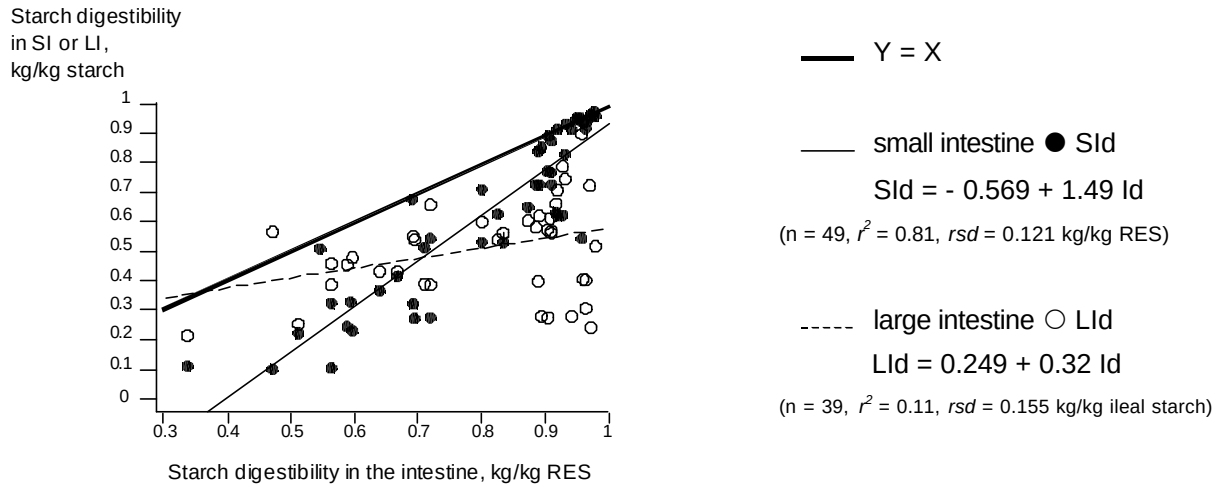


Fig. 6. Partitioning of starch digestibility between small (SI) and large intestine (LI).

3.3. Prediction of starch digestibility in the total tract

Starch digestibility in the total tract (TTd, kg/kg starch) was explained by *in situ* data, as the regression within experiments was satisfactory with a r^2 of 0.81. Observations with standardized residuals greater than 2 were removed from this analysis.

$$TTd = 0.739 + 0.27 \times ED \quad (n = 135, n_{exp} = 56, r^2 = 0.813, rsd = 0.027 \text{ kg/kg starch}) \quad (13)$$

Corroborating this trend, the TTd was 0.900 ± 0.058 kg/kg starch for slowly degrading starch and 0.964 ± 0.038 kg/kg starch for rapidly degrading starch. There was no interaction between starch digestibility and animal type. The regression coefficient of equation (13) was similar to that of the following equation (14), which predicted the same variable using *in vivo* starch digestibility in the rumen.

$$TTd = 0.749 + 0.27 \times Rd \quad (n = 358, n_{exp} = 141, r^2 = 0.780, rsd = 0.034 \text{ kg/kg starch}) \quad (14)$$

The TTd is not different from 1 kg/kg starch if either ED or Rd is equal to 1 kg/kg starch in equations (13) and (14). The large intercept and the small slope indicate that poor digestion of starch in the rumen is partly compensated in the intestines.

When the prediction of TTd was studied using a global approach ($rsd = 0.052$ kg/kg starch), the influence of DM intake as a percentage of LW was significant. If a model similar to equation (6) was built, based on residual variation, higher accuracy was observed:

$$TTd = 0.829 + 0.21 \times ED - 0.018 \times DMI \quad (15)$$

$$(n = 158, R^2 = 0.291, rsd = 0.050 \text{ kg/kg starch})$$

Equations (6) and (11) and mean LId can be used to simply predict the partitioning of

starch digestion of a given diet knowing starch ED of the diet ingredients, DM intake, and the dietary starch content. These equations were applied to predict total starch escaping digestion (faecal starch, kg/d) in the *in vivo* database (Fig. 7). This approach was conducted to validate the equations on a dataset larger than the one used to build them. Except for eight outliers ($|\text{standard residual}| > 2$), this factorial prediction resulted in satisfactory estimation of faecal starch ($n = 146$, $r^2 = 0.746$, $rsd = 0.12$ kg/d), even for dairy cows with little data for starch digestion in the SI and LI. No simple factor could explain the residual.

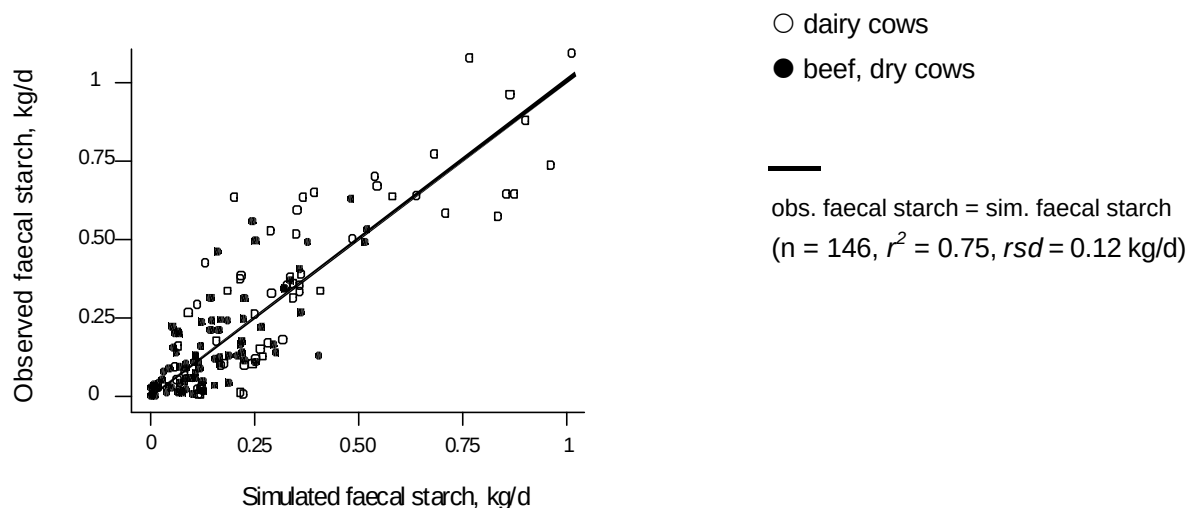


Fig. 7. Global evaluation of faecal starch from equations predicting starch digestibility in the rumen (eq. 6), in the small intestine (eq. 11) and average digestibility in the large intestine.

4. Discussion

4.1. Comparison between *in situ* and *in vivo* data

Only a few comparisons between simultaneous *in situ* and *in vivo* measurements of starch digestion have been made (Nocek and Tamminga, 1991; De Visser, 1993; Archimède et al., 1995) and results of the current study are based on a much larger database. Prediction of rumen escape starch was as satisfactory as the prediction of rumen escape protein (INRA, 1989). Equations predicting starch digestibility in the rumen from *in situ* degradability, proposed by Nocek and Tamminga (1991) and Sauvant (1997), had lower regression coefficients, respectively 0.50 and 0.48, than equations 1 to 4 in the current study (0.50-0.77). Globally, the trend of earlier observations, with regression coefficients lower than 1, was confirmed, with *in situ* methods tending to underestimate *in vivo* starch digestion of slowly degrading starch feedstuffs, whereas they tended to overestimate starch digestion of rapidly degrading starch feedstuffs.

Several hypotheses have been proposed to explain this result (Nocek, 1988; Michalet-Doreau and Ould-Bah, 1992; Sauvant et al., 1994). It could be related to differences

in the quantity or quality of microbial populations inside the rumen and inside the *in situ* bags. That the slope between Rd and ED approaches 1 as rumen fermentations become less active (Fig. 2), suggests that there are negative interactions within the bags. Another explanation could be the absence of particle size reduction during the *in situ* procedure, which affects digestion of slowly degrading starchy sources to a greater extent (Ewing and Johnson, 1987). Alternatively, overestimation of starch digestion observed with rapidly degrading starch feedstuffs could be due to the outflow of small insoluble starch granules with the rumen washout fraction (Michalet-Doreau, 1990). Indeed, starch washout (a) is typically assumed to have an infinite degradation rate. However, Nocek and Tamminga (1991) stated that 10% of starch that washed out of the *in situ* bags would escape rumen degradation. This correction factor is applied in the Dutch protein evaluation system (Tamminga et al., 1994) where starch ED = $ED_{\text{measured}} - 0.1 \times a$. A similar equation derived from our database showed that 6% of the starch washing out of the bag would escape rumen degradation ($ED = ED_{\text{measured}} - 0.06 \times a$). Practically, these corrections hardly altered the ranking of the feeds and decreased ED on average by 6 percentage units.

The study of other factors affecting starch digestibility highlighted the influence of DM intake on prediction of starch digestion from *in situ* degradation. The current regression coefficient of DM intake of 0.083 is higher than that reported by Sauvant (1999) of 0.062. The DM intake effect is likely the outcome of its influence on particulate outflow from the rumen, which is in competition with starch digestion. The conventional passage rate, to calculate ED, was set to 0.06 /h. As most starchy feed sources are concentrate feedstuffs, the mean value of 0.06 /h is logical. In the CNCPS (Sniffen et al., 1992), passage rates of feedstuffs are a function of DM intake (kg/d), metabolic body weight ($\text{kg}^{0.75}$) and forage percentage in the diet, and the k_p is also adjusted for particle size using dietary effective NDF. Two equations were used to calculate the k_p of particles from concentrates and forages (Sauvant and Mertens, *unpublished*) from DM intake as a percentage of LW. These equations improved predictions of starch digestibility in the rumen from *in situ* degradation, although the improvement was limited. From the equation: $ED = a + b \times c / (c + k_p)$, used to predict ED *in situ*, it was possible to calculate a theoretical value of k_p to achieve the best fit of the observed digestibility data in the rumen. The outliers were removed for this analysis and there was no distinction between forage and concentrate. In this case, the effect of DM intake on calculated k_p was significant, the slope of the regression was of 0.030 ± 0.006 , much larger than those proposed by Sauvant and Mertens for passage rates of forages (0.007) and of concentrates (0.014).

Our study showed a positive, but limited, influence of dietary starch content on amylolytic activity in the rumen. This effect was previously stressed by Archimède et al. (1997) and Nozière and Michalet-Doreau (1997). Otherwise, starch digestibility seems to be

largely influenced by ruminal conditions or microbial activity as they can be evaluated through VFA concentration and profile, and pH. Intensive fermentation of starch is often associated with high VFA concentrations, large propionate percentages in VFA, and low pH. Unfortunately, except for the effects of particle size and eating time observed on a very limited part of the data (9%), no clear causal factor was identified. The response of starch digestion to particle size (Table 2) was consistent with experiments of Rémond et al. (2002). It remains a challenge to better explain the large variation among studies for starch digestion in the rumen, which has not been evoked in the major reviews of starch digestion in ruminants (Waldo, 1973; Ørskov, 1986; Sauvant, 1997; Huntington, 1997; Mills et al., 1999ab).

4.2. Partition of starch digestion in the gut

As only a few experiments utilized dairy cows, partitioning of starch digestion between the small and large intestine was studied for beef cattle. Equation (11), predicting starch digestibility in the small intestine, supported the hypothesis of a limited amylolytic capacity (Owens et al., 1986). Unlike Nocek and Tamminga (1991), who used RES (kg/kg dietary starch) to predict SId, we preferred to use RES (kg/kg DM), which gave a better prediction. However, for an equation similar to Nocek and Tamminga (1991), we found a regression coefficient of -0.82, reasonably close to their value of -0.73. For low starch digestibility in the rumen, a compensatory effect occurred in the small intestine. The quantity (RES) and the quality (slowly vs. rapidly degrading) of starch entering the duodenum affect enzymatic digestion in the small intestine. Starch hydrolysed in the SI produces glucose, which can be absorbed (Huntington, 1997). Digestion in the large intestine was positively influenced by DM intake and passage rate and thus had an efficient compensatory effect on starch digestibility. Equation (14), predicting starch digestibility in the total tract from digestibility in the rumen, had a regression coefficient (0.27, $n = 358$), which is similar to the equation of Sauvant (1997) (0.24, $n = 66$).

4.3. Perspectives

This study provides some perspectives in modelling starch digestion, as proposed by Mills et al. (1999ab). It is believed that our equations on starch digestion should be integrated into feed evaluation systems to better optimise starch utilization in ruminants. The French PDI system assumed that the content of fermentable OM decreased by 20% for corn grain and by 30% for sorghum and rice grain to take their lower digestibility of starch in the rumen into account (Vérité et al., 1987). In the recent French feed tables (Sauvant et al., 2002), most values of *in situ* starch ED (Offner et al., 2003) were reported and it was suggested that they be used to correct fermentable OM values. Our equations allow calculation, for each

feed having *in situ* data, of the partition of starch digestion within the digestive tract and so enable their use in feed formulation. The Dutch protein system (Tamminga et al., 1994), which is close to the French one, integrates *in situ* values of rumen escape starch to correct the calculation of fermentable OM content of feedstuffs. The NRC (2001) does not consider any starch degradation parameters, but the amount of the digestible non-fibre carbohydrate (NFC) fraction is calculated as: $0.98 \times (\text{NFC} + \text{NDFIP}) \times \text{PAF}$, with NDFIP being neutral detergent insoluble CP, and the PAF being a poorly defined processing adjustment factor. The PAF does not account for all variability observed in starch ED when various processes are applied. The CNCPS uses specific feed fractions and degradation rates, which are difficult, and in some cases impossible, to estimate with confidence. This overview of feed evaluation systems shows that current systems pay little attention to starch digestion.

5. Conclusion

Estimates of *in situ* starch effective degradability were compared to numerous observations of starch digestibility *in vivo*. Results showed that the *in situ* technique accurately predicted starch digestibility in the forestomachs and the total tract. However, starch digestion for feedstuffs with slowly degrading starch was underestimated with the *in situ* technique, whereas starch digestion was overestimated for feedstuffs with rapidly degrading starch. Accuracy of the prediction was greatly improved by accounting for the influence of DM intake. Parameters, such as particle size, dietary starch content, pH and VFA may also improve the predictions, although a large portion of the variability among experiments remained unexplained. Finally, some equations to predict starch digestion in the intestines were developed. Digestibility in the small intestine decreased with increasing amount of rumen escape starch and was higher for diets with rapidly degrading starch. Digestibility in the large intestine, about 0.5 kg/kg ileal starch, increased with increasing DM intake. Further studies need to be conducted to examine the partitioning of starch digestion between the small and large intestines. Prediction equations for starch digestibility were validated from the whole dataset and so could provide useful applications, especially in feed evaluation systems.

Acknowledgements

The authors wish to thank Cargill Animal Nutrition for financial support of this research in the form of a doctoral fellowship for A. Offner. The authors also thank M. Murphy for English corrections of the manuscript.

References

- Archimède, H., Sauvant, D., Dorléans, M., Chapoutot, P., Poncet, C., 1995. Influence of the nature of forage and concentrate on the digestive interactions measured *in sacco* and *in vivo*. Anim. Feed Sci. Technol. 54, 341-356.
- Archimède, H., Sauvant, D., Schmidely, P., 1997. Quantitative review of ruminal and total tract digestion of mixed diet organic matter and carbohydrates. Reprod. Nutr. Dev. 37, 173-189.
- Campling, R.C., 1991. Processing cereals grains for cattle - a review. Livest. Prod. Sci. 28, 223-234.
- De Visser, H., 1993. Influence of carbohydrates on feed intake, rumen fermentation and milk performance in high-yielding dairy cows. Ph.D. Thesis. Wageningen Agricultural University, The Netherlands, 174pp.
- Ewing, D.L., Johnson, D.E., 1987. Corn particle starch digestion, passage and size reduction in beef steers: a dynamic model. J. Anim. Sci. 64, 1194-1204.
- Huntington, G.B., 1997. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. J. Anim. Sci. 75, 852-867.
- INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), 1989. Ruminant Nutrition. Recommended Allowances and Feed Tables. INRA and John Libbey Eurotext, Paris.
- Michalet-Doreau, B., 1990. Influence of the type of feed on the significance of particle loss in the measurement of *in sacco* degradability of feed nitrogen. Reprod. Nutr. Dev. Suppl. 2, 151s-152s.
- Michalet-Doreau, B., Ould-Bah, M.Y., 1992. *In vitro* and *in sacco* methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen: a review. Anim. Feed Sci. Technol. 40, 57-86.
- Mills, J.A.N., France, J., Dijkstra, J., 1999a. A review of starch digestion in the lactating dairy cow and proposals for a mechanistic model: 1. Dietary starch characterisation and ruminal starch digestion. J. Anim. Feed Sci. 8, 291-340.
- Mills, J.A.N., France, J., Dijkstra, J., 1999b. A review of starch digestion in the lactating dairy cow and proposals for a mechanistic model: 2. Postruminal starch digestion and small intestinal glucose absorption. J. Anim. Feed Sci. 8, 541-581.
- Nocek, J.E., 1988. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. J. Dairy Sci. 71, 2051-2069.
- Nocek, J.E., Tamminga, S., 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. J. Dairy Sci. 74, 3598-3629.

- Nozière, P., Michalet-Doreau, B., 1997. Effects of amount and availability of starch on amylolytic activity of ruminal solid-associated microorganisms. *J. Sci. Food Agric.* 73, 471-476.
- NRC (National Research Council), 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. National Academy Press, Washington, DC.
- Offner, A., Bach, A., Sauvant, D., 2003. Quantitative review of *in situ* starch degradation in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 106, 81-93.
- Ørskov, E.R., 1986. Starch digestion and utilization in ruminants. *J. Anim. Sci.* 63, 1624-1633.
- Ørskov, E.R., McDonald, I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci. Camb.* 92, 499-503.
- Owens, F.N., Zinn, R.A., Kim, Y.K., 1986. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *J. Anim. Sci.* 63, 1634-1648.
- Poncet, C., Michalet-Doreau, B., Mc Allister, T., Rémond, D., 1995. Dietary compounds escaping rumen digestion. In: *Recent Developments in the Nutrition of Herbivores*, INRA (Eds), pp.167-204.
- Rémond, D., Cabrera Estrada, J.I., Chauveau, B., Poncet, C., 2002. Effet des traitements mécaniques des grains de maïs sur le site de digestion de l'amidon chez la vache laitière en production. *Renc. Rech. Rum.* 9, p.326.
- Reynolds, C.K., Cammell, S.B., Humphries, D.J., Beever, D.E., Sutton, J.D., Newbold, J.R., 2001. Effects of postrumen starch infusion on milk production and energy metabolism in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84, 2250-2259.
- Russell, J., O'Connor, J., Fox, D., Van Soest, P., Sniffen, C., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.* 70, 3551-3561.
- Sauvant, D., 1997. Conséquences digestives et zootechniques des variations de la vitesse de digestion de l'amidon chez les ruminants. *INRA Prod. Anim.* 10, 287-300.
- Sauvant, D., 1999. Influences of feeding level and type of starch on its digestion in cattle. *Sci. Aliments.* 19, 499-503.
- Sauvant, D., Chapoutot, P., Archimède, H., 1994. La digestion des amidons par les ruminants et ses conséquences. *INRA Prod. Anim.* 7, 115-124.
- Sauvant, D., Perez, J.M., Tran, G., 2002. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage. INRA (Eds), 301pp.
- Sniffen, C., O'Connor, J., Van Soest, P., Fox, D., Russell, J., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70, 3562-3577.

- St-Pierre, N.R., 2001. Invited review: integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. *J. Dairy Sci.* 84, 741-755.
- Surber, L.M.M., Bowman, J.G.P., 1998. Monensin effects on digestion of corn or barley high-concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 76, 1945-1954.
- Tamminga, S., Van Straalen, W.M., Subnel, A.P.J., Meijer, R.G.M., Steg, A., Wever, C.J.G., Blok, M.C., 1994. The Dutch protein evaluation system: the DVE/OEB-system. *Livest. Prod. Sci.* 40, 139-155.
- Vérité, R., Michalet-Doreau, B., Chapoutot, P., Peyraud, J.L., Poncet, C., 1987. Révision du système des protéines digestibles dans l'intestin (P.D.I.). INRA Theix, *Bull. Tech. C.R.Z.V.* 70, 19-34.
- Waldo, D.R., 1973. Extent and partition of cereal grain starch digestion in ruminants. *J. Anim. Sci.* 37, 1062-1074.
- Yang, W.Z., Beauchemin, K.A., Farr, B.I., Rode, L.M., 1997a. Comparison of barley, hull-less barley, and corn in the concentrate of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80, 2885-2895.
- Yang, W.Z., Beauchemin, K.A., Koenig, K.M., Rode, L.M., 1997b. Comparison of hull-less barley, barley, or corn for lactating cows: effects on extent of digestion and milk production. *J. Dairy Sci.* 80, 2475-2486.

3. Intégration des flux d'amidon dans les systèmes d'alimentation

Les systèmes d'alimentation permettent de caractériser les valeurs énergétiques et protéiques des aliments ainsi que les besoins en énergie et en azote de l'animal selon son stade physiologique. Ces systèmes présentent un intérêt économique important compte tenu du « coût » de l'énergie et des protéines dans les rations.

3.1. Les systèmes d'alimentation énergétique

Les méthodes d'estimation de la **valeur énergétique** d'un aliment sont basées principalement sur la composition chimique et les valeurs de digestibilité. L'unité énergétique est une unité très agrégée car elle regroupe des nutriments ayant des significations physiologiques très différentes. Notre travail concerne principalement la fraction amylacée du régime qui se traduit par une absorption d'AGV dans le rumen ou de glucose dans l'intestin grêle selon le niveau de digestion dans le rumen. Plusieurs systèmes d'alimentation ont plus ou moins cherché à intégrer certains de ces aspects, il nous a donc semblé important de les étudier et de les comparer. Une étude a été conduite afin de comparer trois systèmes d'évaluation de la valeur nutritionnelle des aliments (CNCPS, NRC et INRA). Cette comparaison a été basée sur l'estimation des teneurs en **NFC** (*Non Fiber Carbohydrate*) et des teneurs en NFC digestible (**NFCd**). La fraction NFC (% MS) est estimée par différence: **NFC = 100 - MAT - MG - NDF - MM** avec MAT, matières azotées totales, MG, matières grasses brutes et MM, matières minérales. Cette fraction est donc principalement constituée d'amidon, de sucres solubles, d'acides organiques et de pectine. L'amidon représente environ 100 % de la fraction NFC pour les concentrés riches en amidon (Fig. 1). Par contre, pour les fourrages et les concentrés pauvres en amidon, la proportion de NFC est plus élevée que celle de l'amidon (Ward et al., 2003).

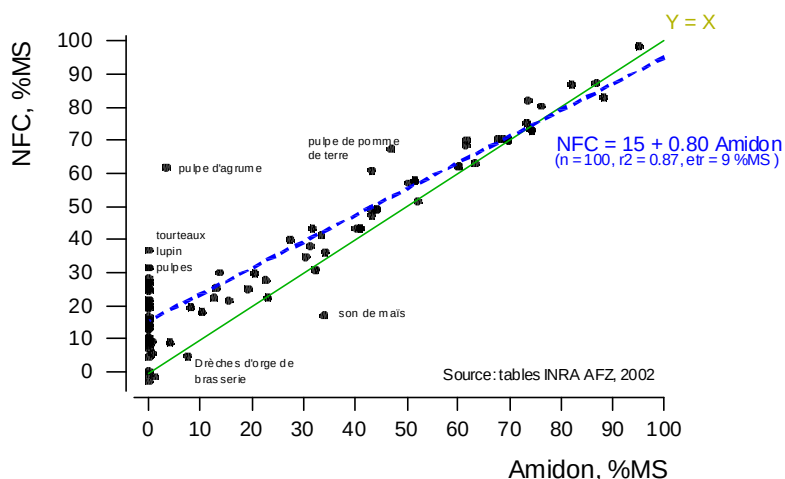


Fig. 1. Relation entre les teneurs en amidon et NFC pour les concentrés.

Les valeurs de composition chimique des trois tables de référence ont été appliquées pour estimer la valeur de NFC pour une vingtaine d'aliments couramment utilisés. Les résultats indiquent de fortes corrélations ($r > 0,88$) entre les fractions NFC prédites par les trois systèmes (Fig. 2). Aucun système ne présente de biais significatif par rapport aux autres. Par contre, des différences notables (>12 points de MS) ont été observées pour certains ingrédients tels que le tourteau de maïs, la féverole, les drèches d'orge de brasserie ou le sorgho.

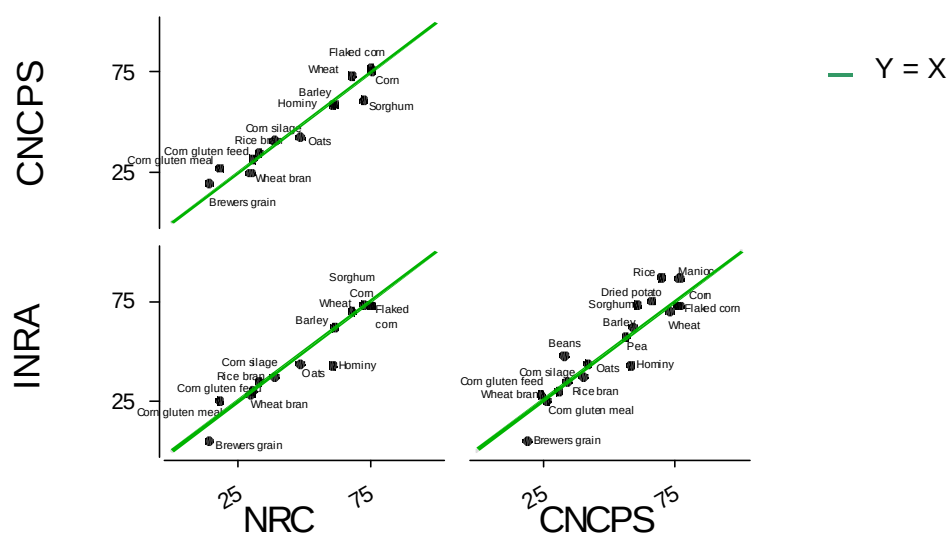


Fig. 2. Estimation de NFC (*Non Fiber Carbohydrate*), exprimé en % MS, avec trois systèmes d'évaluation des aliments (CNCPS, INRA, NRC).

L'étude des sous-fractions contenues dans NFC montre des différences marquantes entre les systèmes. En effet, la fraction CB1, définie comme de l'amidon dans le CNCPS ($CB1 = NFC \times \text{Amidon, \% NFC}$), ne semble pas correspondre précisément à la fraction amidon des aliments. La fraction CB1 sous-estime la fraction amidon donnée dans les tables INRA (différence: -2,6, corrélation: $r = 0,92$), excepté pour certains produits du maïs (Fig. 3). De même, la fraction CA ($CA = NFC - CB1$) ne correspond pas à la fraction sucre (+1,9, corrélation non significative) ni à la fraction de NFC soluble (-17,4, $r = 0,62$).

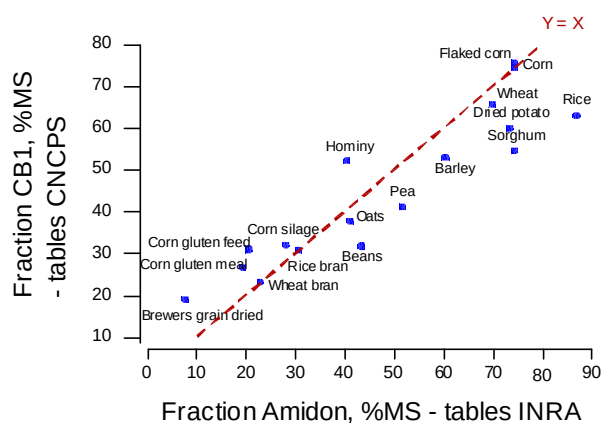


Fig. 3. Relation entre la fraction CB1 du modèle CNCPS et les teneurs en amidon (INRA).

La méthode d'estimation des teneurs en NFC digestible diffère selon les systèmes. Le NRC utilise une approche empirique: $\text{NFCd} = 0,98 \cdot \text{PAF} \cdot (\text{NFC} + \text{NDICP})$; avec PAF, facteur d'ajustement lié aux traitements technologiques et NDICP, protéines insolubles dans un détergent neutre. Le CNCPS et le système INRA permettent d'adopter une approche plus mécaniste de la digestion en distinguant les fractions digestibles dans le rumen et dans les intestins. Les taux fractionnaires de dégradation dans le rumen utilisés dans les tables INRA provenaient de notre étude quantitative portant sur la dégradation de l'amidon *in sacco* (Offner et al., 2003). Le taux fractionnaire de transit a été fixé à 6 % h⁻¹ par soucis d'homogénéité entre les deux systèmes. Les teneurs en NFC digestible dans le rumen estimées à partir du CNCPS ou du système INRA présentent des différences variant de 1 à 16 % MS. Les équations de prédiction de la digestibilité intestinale présentées par Offner et Sauvante (2003a) ont été appliquées pour le système INRA. Le résultat des estimations pour les teneurs en NFCd souligne des différences significatives entre les trois systèmes allant de 0,7 à 23 % MS (Fig. 4). Le NRC surestime NFCd par rapport au CNCPS (+ 3 % MS, *etr* = 6,2 % MS) et au système INRA (+ 5,2 % MS, *etr* = 9,0 % MS).

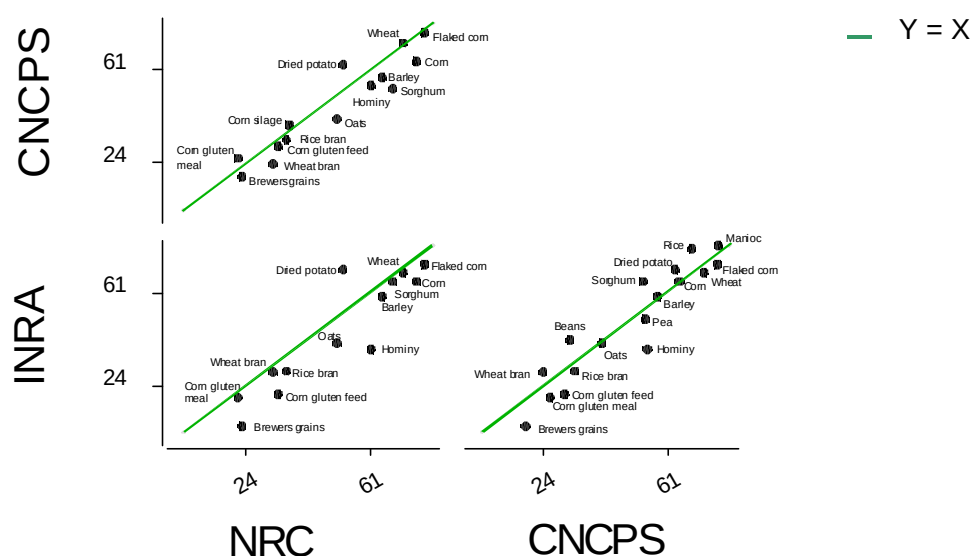


Fig. 4. Estimation de la fraction digestible de NFC (*Non Fiber Carbohydrate*), exprimée en %MS, avec trois systèmes d'évaluation des aliments (CNCPS, INRA, NRC).

Certaines différences entre les trois systèmes sont surprenantes. La fraction NFC est composée de nombreux constituants avec des propriétés (composition, digestibilité) variables. L'estimation de NFC par différence entraîne une accumulation d'erreurs de mesure, en ce sens l'utilisation de cette fraction est peu recommandable. En outre, une estimation plus cohérente de NFC et de NFCd est nécessaire. Les systèmes d'alimentation actuels intègrent peu les données relatives aux flux digestifs des nutriments et en particulier

aux flux d'amidon. La voie reste ouverte à de nouvelles approches permettant de mieux expliciter les mécanismes et les déterminants des flux de nutriments absorbés. L'amélioration des systèmes énergétiques passe par la prise en compte de la nature de l'énergie, c'est à dire par une quantification de la production et de l'absorption des principaux nutriments dans les différents compartiments (Vermorel et Coulon, 1992; Demarquilly et al., 1996). Un système basé sur un seul constituant (amidon), mesurable directement et donc valable expérimentalement semble être plus approprié pour affiner les estimations. Les deux études précédentes (Offner et al., 2003; Offner et Sauvant, 2003a) permettent de mieux estimer et quantifier les flux d'amidon. En conséquence, elles permettent aussi de quantifier les principaux produits de la digestion en terme d'AGV et de glucose consécutif à la digestion de l'amidon.

3.2. Les systèmes d'alimentation protéique

Les **systèmes d'évaluation de la nutrition azotée** ont longtemps été basés sur un bilan digestif apparent avec l'estimation des matières azotées digestibles. Aujourd'hui, les « nouveaux systèmes » (25 ans d'âge !) sont basés sur la notion de « protéines disponibles ». Une des principales différences entre les systèmes actuels réside dans le choix des paramètres utilisés pour estimer la synthèse protéique d'origine microbienne (Alderman, 1998). La quantité d'énergie disponible dans le rumen constitue en général le premier facteur limitant de la croissance microbienne. Le système français d'évaluation des protéines (système PDI: protéines digestibles dans l'intestin grêle) et le système hollandais (DVE/OEB) estiment la croissance à partir de la quantité de **matière organique fermentescible** (MOF). La MOF est elle-même largement appréciée par la matière organique digestible (MOD): **MOF = MOD - MAND - MG - PF**, avec MAND, matières azotées non dégradables, MG, matières grasses, PF, produits de fermentation des ensilages. Dans la dernière version du système PDI, la teneur en MOF était diminuée de 20 % pour le maïs et de 30 % pour le sorgho et le riz afin de prendre en compte la faible dégradabilité de leur amidon dans le rumen (Vérité et al., 1987). Seul, le système hollandais d'évaluation des protéines a introduit spécifiquement la fraction d'amidon non dégradable *in sacco* (AMND) pour estimer la matière organique fermentescible: **MOF = MOD - MAND - AMND - MG - 0,5 × PF** (Tamminga et al., 1994). Le système adopté aux Etats-Unis (NRC, 2001) utilise la teneur en nutriments digestibles (TDN) comme paramètre indirect d'estimation de l'énergie disponible pour les microbes. Ce système considère l'estimation de TDN plus pratique et au moins aussi appropriée que l'estimation de la MOF des aliments. Le système scandinave (AAT/PBV) utilise la teneur en glucides digestibles (Madsen, 1985). Le système australien (SCA) se base sur l'énergie métabolisable qui intègre également la contribution des protéines et de la

matière grasse à la synthèse d'ATP. Enfin, le système britannique s'appuie sur l'énergie métabolisable fermentescible: $FME = ME - ME_{pf} - ME_{mg}$, la contribution des produits de fermentation des ensilages et de la matière grasse à ME étant déduite. Néanmoins, FME reste un critère peu pertinent au niveau biologique (Agnew et Newbold, 2002).

Etant donné la forte influence de la MOF sur la détermination de la croissance microbienne, une étude a été réalisée pour améliorer l'estimation de la MO réellement fermentée dans le rumen (MODRv) à partir des données portant sur la digestion de l'amidon. Une comparaison des systèmes d'alimentation actuels montre qu'ils ne prédisent pas MODRv de façon très satisfaisante (Offner et Sauvant, 2003c). Le CNCPS surestime ce paramètre par rapport aux observations *in vivo* (+ 15,8 % MS, $n = 91$). Les variations de MODRv intra-essai ont été prédites par le CNCPS avec un écart-type résiduel (*etr*) de 3,51 % MS (Fig. 5). Avec le système INRA (1988), les variations de MODRv intra-essai ont été prédites avec un *etr* de 3,15 % MS ($n = 185$) (Fig. 6).

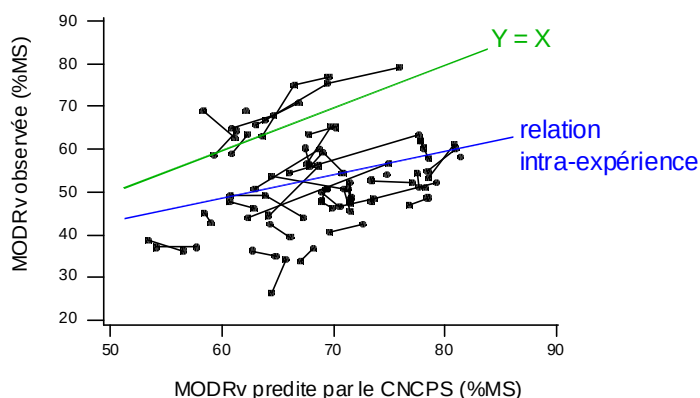


Fig. 5. Relation entre les quantités de matière organique réellement fermentée (MODRv) observées et prédites par le CNCPS.

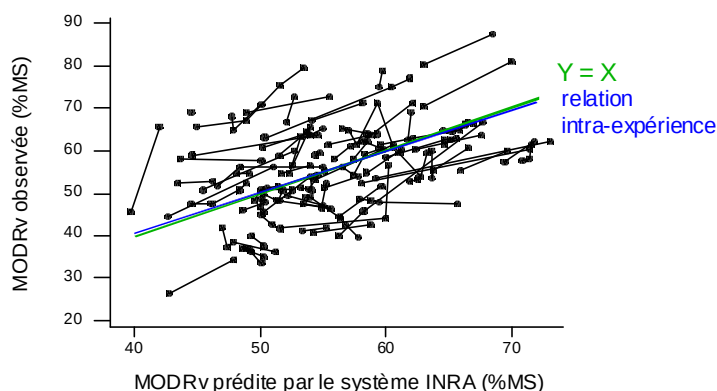


Fig. 6. Relation entre les quantités de matière organique réellement fermentée (MODRv) observées et prédites par l'INRA.

Afin d'améliorer cette prédiction, la contribution de l'amidon dégradé (**ADR, % MS**) à la MODRv peut être envisagée. La teneur du régime en ADR peut être mesurée *in vivo* ($ADR = 27,8 \pm 14,1$ % MS) ou peut en pratique être estimée à partir de valeurs *in sacco*. Ces deux valeurs sont très liées et la quantité de matière sèche ingérée (**MSI, % PV**) influence à la fois la pente et l'ordonnée à l'origine de la relation: $ADR = -9,80 + 1,77 \cdot ADR_{saccho} + 4,02 \cdot MSI - 0,31 \cdot MSI \cdot ADR_{saccho}$ ($n = 173$, $R^2 = 0,86$, $etr = 5,0$ % MS). La quantité de matière organique fermentée dans le rumen ($MODRv = 56,8 \pm 11,6$ % MS) peut être estimée en intra-essai à partir de ADR (Fig. 7). La relation intra-essai présente une assez bonne précision: $MODRv = 42,2 + 0,59 \cdot ADR$ ($n = 200$, $n_{exp} = 85$, $R^2 = 0,94$, $etr = 3,4$ % MS, $et_{inter} = 14,8$ % MS). Une équation assez similaire peut être obtenue à partir de ADR_{saccho} : $MODRv = 43,9 + 0,63 \cdot ADR_{saccho}$ ($n = 113$, $n_{exp} = 54$, $R^2 = 0,92$, $etr = 4,0$ % MS, $et_{inter} = 13,9$ % MS). L'effet de la MSI n'est pas significatif sur cette relation. D'après ces équations, la valeur de MODRv est voisine de 100 % lorsque ADR est égal à 100 % MS. La pente, inférieure à 1, se justifie dans la mesure où l'amidon dégradé n'est pas la seule source de MODRv des aliments.

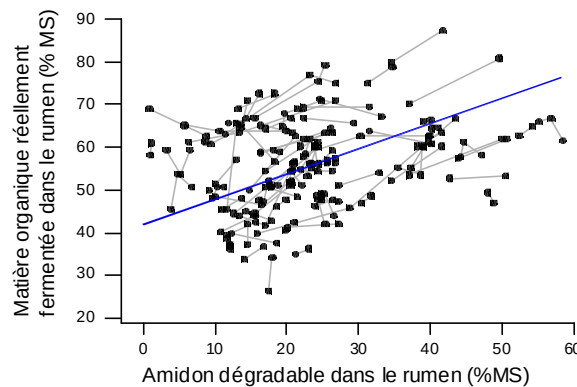


Fig. 7. Relation intra-essai entre la matière organique réellement fermentée dans le rumen et l'amidon dégradé dans le rumen.

L'analyse de nos données permet de proposer une nouvelle équation de prédiction de la MODRv connaissant ADR_{saccho} : $MODRv = 20 + 0,65 \cdot ADR_{saccho} + MAD + 0,5 \cdot NDFd$ ($n = 139$, $n_{exp} = 60$, $R^2 = 0,96$, $etr = 2,96$ % MS, $et_{inter} = 15,0$ % MS) avec MAD, matières azotées dégradables et NDFd, NDF digestible. Cette équation permet d'améliorer l'estimation de la MODRv avec un etr de 2,96 % MS. Enfin, les résultats mettent en évidence une bonne relation intra-essai entre les digestibilités de l'amidon et de la matière organique dans l'ensemble du tube digestif ($dMO = 72,7 \pm 6,8$ % MO). La dMO augmente en moyenne de 0,55 % lorsque dAM augmente de 1 %: $dMO = 20,5 + 0,55 \cdot dAM$ ($n = 264$, $n_{exp} = 109$, $R^2 = 0,94$, $etr = 2,1$ % MO). La MO peut être déterminée par la somme de ses constituants

(C), dMO peut donc être calculée par $dMO = \sum C (\% MO) \cdot dC$. Le coefficient associé à dAM correspondrait donc à la fraction d'amidon des rations (55 % MO). En fait, la moyenne des teneurs en amidon observée était de $41 \pm 17 \% MO$, donc inférieure au coefficient trouvé.

Les variations de la digestibilité de l'amidon influent sur la digestibilité de la matière organique et donc sur les valeurs énergétiques des aliments. Ainsi, la valeur énergétique du maïs et du sorgho dépend du traitement technologique appliqué qui peut modifier sensiblement la digestibilité de l'amidon au niveau du rumen et de l'ensemble du tube digestif. L'équation de prédiction de MODRV à partir de ADR peut donc présenter un intérêt pour améliorer l'estimation de la valeur énergétique de certains aliments et l'estimation de la croissance microbienne induite.

4. Effets des traitements technologiques sur l'utilisation de l'amidon

Les traitements technologiques (extrusion, expansion, floconnage...) appliqués sur les aliments modifient fortement leurs propriétés physico-chimiques. Les grains d'amidon subissent un processus de gélatinisation par l'action de la chaleur et de l'humidité. La matrice protéique enveloppant les grains de certaines céréales (maïs, sorgho) peut être désorganisée. L'impact des traitements sur la digestibilité de l'amidon et les valeurs énergétiques des aliments peut donc être considérable. Les systèmes d'alimentation actuels (NRC, CNCPS, INRA...) tiennent encore très peu compte de l'effet des traitements technologiques, qui sont pourtant de plus en plus utilisés dans l'industrie de l'alimentation animale. Jusqu'à présent, peu d'études permettent de quantifier précisément les effets des traitements technologiques. L'analyse quantitative de la base de données « *in sacco* » a cependant permis de regrouper un ensemble d'expériences présentant l'effet de traitements sur la DT de l'amidon (Offner et al., 2003). Cet article a aussi souligné l'absence d'études *in sacco* dans le cas de certains traitements technologiques. En conséquence, pour les ingrédients traités utilisés dans les expérimentations de la base de données « *in vivo* », des équivalents de la DT *in sacco* ont pu être déterminés à partir de l'équation liant DT à la digestibilité ruminale: $DT = - 0,646 + 1,47 \times drAM + 0,122 \times MSI, \% PV$ (Offner et Sauvante, 2003a). De cette façon, le tableau présenté par Offner et al. (2003) avec les données de DT *in sacco* des grains traités a pu être complété avec les ingrédients pour lesquels les mesures *in sacco* n'existent pas (Tableau 1). Cette méthode a aussi été utilisée pour vérifier la cohérence de la valeur de DT de l'ensilage de maïs (Offner et al., 2003). Un « équivalent » DT a été déterminé à partir des observations *in vivo*. Ainsi, à partir de 19 expériences et 44 observations portant sur des régimes contenant plus de 30 % d'ensilage de maïs, une valeur

moyenne de DT de 0,84 kg/kg amidon a été obtenue pour l'ensilage de maïs. Ce résultat confirme l'étude *in sacco*; cependant des écarts-types inter-essais (0,26 kg/kg amidon) et intra-essai (0,11 kg/kg amidon) considérables ont été observés.

Tableau 1

Influence des traitements sur la dégradabilité théorique de l'amidon *in sacco* (kg/kg amidon)

	Traitement	n _{vivo}	n _{sacco}	DT
Maïs	Broyé grossièrement ("crackage") ^a	31		0,387 ± 0,248
	Non traité ^b		28	0,602
	Broyé ^a		6	0,723
	Aplati à la vapeur ("steam rolled") ^a	4		0,741 ± 0,350
	Extrudé ^b		4	0,769
	Floconné à la vapeur ("steam flaked") ^b		2	0,858
Sorgho	Broyé ^a	8		0,582 ± 0,199
	Tanné ^b		2	0,588
	Non traité ^b		9	0,599
	Micronisé ("micronized") ^a	4		0,687 ± 0,131
	Extrudé ^b		2	0,758
	Floconné à la vapeur ^a	14		0,929 ± 0,131
Orge	Non traité ^b		26	0,891
	Aplati à la vapeur ^a	16		0,899 ± 0,111
	Broyé, floconné ^a	3		+ 1
Avoine	Non traité ^b		6	0,927
	Aplati à la vapeur ^a	2		0,987 ± 0,004

^a valeurs recalculées à partir d'observations *in vivo*: $DT = (1/0,68) \times (drAM - 0,439 + 0,083 \text{ MSI, \% PV})$

^b valeurs issues d'observations *in sacco* (Offner et al., 2003)

La base de données « *in vivo* » contient également des informations utilisables sur les caractéristiques des traitements technologiques: température, pression, durée du traitement, densité des grains obtenus. Une étude a permis d'évaluer l'influence de la densité des grains (D) sur les caractéristiques ruminales et digestives. La base de données comporte 21 références et 69 traitements étudiant l'influence de la densité du grain. Dans 80 % des références, le maïs ou le sorgho étaient utilisés comme matière première. Les traitements appliqués étaient principalement le floconnage à la vapeur (*steam flaking*) et le broyage ou aplatissage à sec (*dry rolling*); les densités de grain correspondantes variaient de 170 à 684 g/L ($D = 389 \pm 100 \text{ g/L}$). Les données ont été analysées avec des modèles GLM qui intégraient l'effet expérimental comme variable qualitative. Les résultats soulignent l'effet de la densité sur plusieurs paramètres clés. Une baisse de la densité du produit traité augmente

de façon significative la digestibilité de l'amidon dans le rumen ($drAM = 73,7 \pm 15,8 \%$): **$drAM, \% = 99,88 - 0,063D$** ($n = 58$, $n_{exp} = 20$, $R^2 = 93,2 \%$, $etr = 5,1 \%$, $et_{inter} = 13,7 \%$) (Fig. 1).

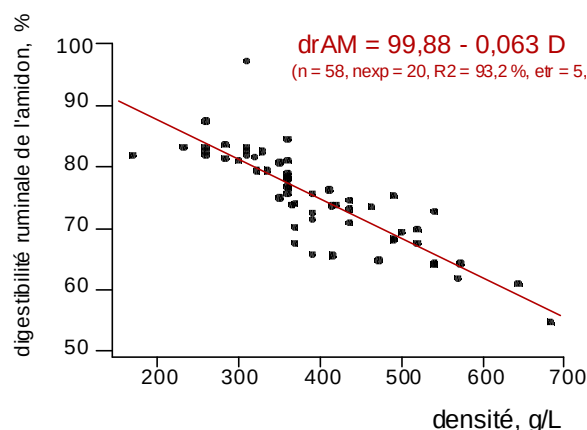


Fig. 1. Influence intra-essai de la densité sur la digestibilité de l'amidon au niveau du rumen.

En conséquence, la matière organique fermentée dans le rumen ($MOF = 61,6 \pm 12,0 \%$ MS) augmente de 21 % MS lorsque la densité baisse de 100 g/L. La digestibilité de la matière organique dans l'ensemble du tube digestif ($dMO = 73,9 \pm 8,0 \%$) augmente de façon similaire: **$dMO, \% = 84,04 - 0,025D$** ($n = 46$, $n_{exp} = 16$, $R^2 = 93,7 \%$, $etr = 2,5 \%$). Les traitements ont également eu un effet logique sur la formation de protéines microbiennes ($MCP = 73,7 \pm 16,5 \%$ MS), qui augmente lorsque la densité diminue: **$MCP, \% MS = 83,82 - 0,021D$** ($n = 33$, $n_{exp} = 12$, $R^2 = 95,3 \%$, $etr = 4,5 \%$ MS) (Fig. 2). Enfin, l'influence de la densité du grain sur le pH ruminal ($pH = 6,0 \pm 0,3$) était également remarquable: **$pH = 5,54 + 0,001D$** ($n = 38$, $n_{exp} = 13$, $R^2 = 94,4 \%$, $etr = 0,1$). Le pH ajusté était inférieur à 6 pour des densités inférieures à 460 g/L.

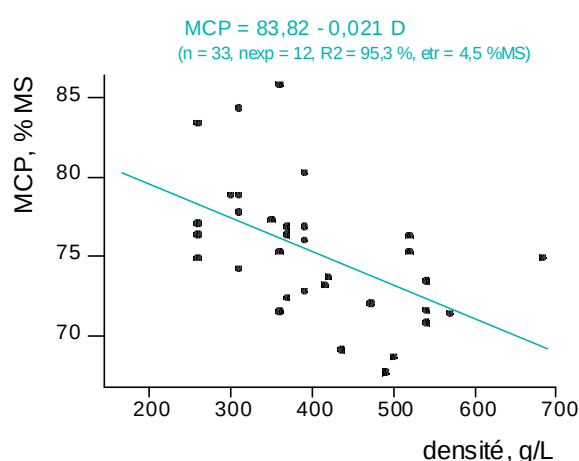


Fig. 2. Influence intra-essai de la densité sur la synthèse de protéines microbiennes.

La densité du maïs ou du sorgho traité est donc un paramètre quantitatif simple à mesurer qui peut être utilisé pour prédire la digestion de l'amidon et des paramètres digestifs ruminiaux. En conclusion, les effets des traitements technologiques (tels que le floconnage)

sur les paramètres digestifs peuvent être pris en compte en considérant les effets liés à la densité.

5. Conséquences digestives des variations des teneurs en amidon dégradable dans le rumen

Les conséquences des variations de la vitesse et du site de digestion de l'amidon sont multiples et concernent à la fois les réponses digestives et zootechniques de l'animal (Sauvant, 1997a). Les conséquences digestives des variations de ADR ont été étudiées à partir de la base de données préalablement développée sur les flux digestifs *in vivo*. En effet, cette base contient aussi des données relatives à la digestibilité des fibres, à la concentration des acides gras volatils du rumen ou encore à la synthèse de protéines microbiennes. Des analyses statistiques ont été effectuées, notamment pour étudier les relations entre ces facteurs. Afin de réaliser une étude analytique complète, deux approches ont été utilisées: l'approche « globale » et l'approche « intra-essai » qui prend en compte un effet « publication ». Jusqu'à présent, très peu d'études quantitatives ont porté sur les conséquences des interactions microbiennes (Michalet-Doreau et al., 1997) et peu ont été utilisées dans les systèmes d'alimentation. Les interactions digestives et métaboliques sont importantes lorsque les régimes contiennent une forte proportion d'énergie fournie par le concentré. Dans ces situations, les régimes apportent généralement une forte quantité d'amidon. L'objectif de cette étude est d'examiner et de quantifier l'influence de la teneur de la ration en amidon dégradable (ADR, % MS) sur les principaux paramètres digestifs. Les paramètres étudiés ont tous été préalablement corrigés pour le niveau de matière sèche ingérée (MSI, % PV). Cette correction a été effectuée en étudiant l'influence de MSI sur le paramètre étudié: $Y_i = a + b \times \text{MSI} + e_i$, puis en recalculant le paramètre pour la valeur moyenne de MSI ($\overline{\text{MSI}}$) dans l'ensemble des expériences concernées: $Y'_i = a + b \times \overline{\text{MSI}} + e_i$.

L'augmentation de la teneur en amidon dégradable dans la ration entraîne notamment une réduction de la digestibilité des fibres. On observe une baisse significative de $0,27 \pm 0,11$ points de la digestibilité du NDF dans l'ensemble du tube digestif (dNDF, %) lorsque ADR augmente de 1 % MS (Fig. 1). Il faut noter que cette relation n'était plus significative au-dessus d'un seuil de 30 % MS de ADR. Une influence encore plus marquée peut être observée au niveau ruminal: **$\text{drNDF} = 72,88 - 0,63 \text{ ADR}$** ($n = 20$, $n_{\text{exp}} = 9$, $R^2 = 0,88$, $\text{etr} = 4,1$ %). Les coefficients des régressions (-0,63 comparé à -0,27) soulignent un phénomène de compensation qui se produit dans la partie distale du tube digestif. La digestibilité des fibres dans l'ensemble du tube digestif est largement conditionnée par la digestibilité au niveau ruminal: **$\text{dNDF} = 19,6 + 0,68 \text{ drNDF}$** . Néanmoins, la part de NDF digérée dans les intestins

n'est pas négligeable lorsque drNDF est faible. La figure 2 illustre cette augmentation de la digestibilité des fibres au niveau intestinal (Y) lorsque la digestibilité au niveau ruminal (X) diminue. Ce phénomène de compensation doit vraisemblablement dépendre positivement de la durée du transit.

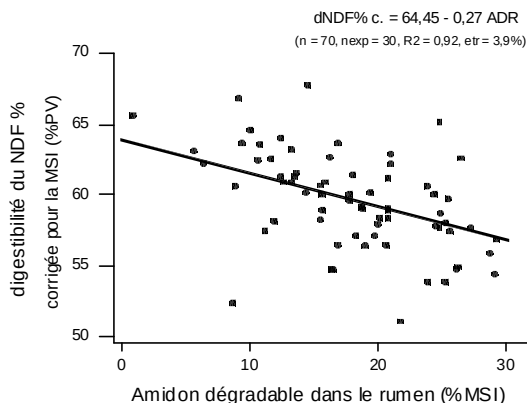


Fig. 1. Influence intra-essai de la teneur en amidon dégradable sur la digestibilité des fibres.

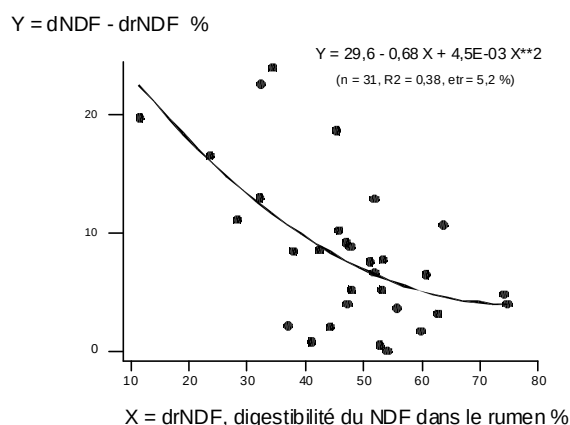


Fig. 2. Digestibilité des fibres au niveau intestinal (Y) et ruminal (X): mise en évidence d'un phénomène compensatoire dans la partie distale du tube digestif.

La fermentation des glucides notamment par les bactéries amylolytiques et cellulolytiques est associée avec la production d'acides gras volatils (AGV). Dans notre étude, la concentration des AGV n'est pas affectée par la teneur en ADR de la ration. Par contre, le pH diminue: $\text{pH} = 6,5 - 0,011 \text{ ADR}$ ($n = 75$, $n_{\text{exp}} = 31$, $R^2 = 0,95$, $\text{etr} = 0,1$) et le profil en AGV est modifié par une augmentation de ADR. Le rapport acétate sur propionate décroît de façon quadratique ($R^2 = 0,89$) lorsque la teneur en ADR augmente (Fig. 3). Si on considère qu'un rapport normal se situe autour de 3,75, cette relation peut être considérée comme révélatrice d'un seuil autour de 15-20 % de ADR. Au-dessus, les fermentations deviennent instables et les microorganismes utilisent l'excès d'énergie et produisent des AGV à chaînes plus longues entraînant un faible rapport A/P.

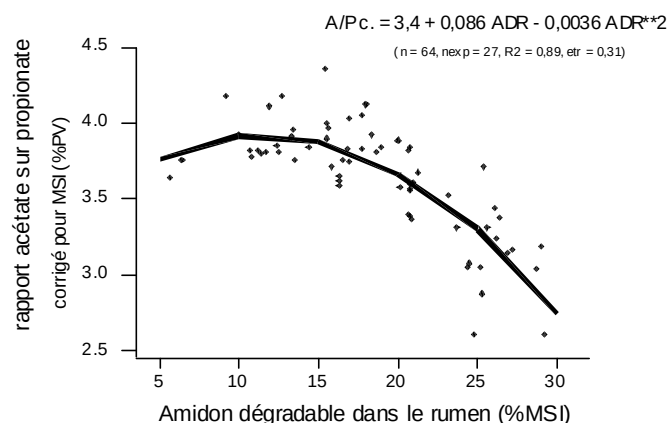


Fig. 3. Influence intra-essai de la teneur en amidon dégradable sur le rapport acétate sur propionate dans le rumen.

La disponibilité du rumen en MODRv augmente lorsque ADR augmente. Comme MODRv est la source d'énergie pour les microbes, les relations entre MODRv et la synthèse de protéines microbiennes (MCP, % MS) ont été étudiées. La régression intra-essai liant les deux paramètres (Fig. 4) est assez précise: **MCP, % MS = 0,36 + 0,141 MODRv** ($n = 72$, $n_{\text{exp}} = 31$, $R^2 = 0,91$, $\text{etr} = 0,92$ % MS). On observe une augmentation de MCP de $0,141 \pm 0,031$ par unité de MODRv, œ qui est très similaire au coefficient correspondant (0,145) dans les systèmes protéiques récents tels que le système PDI.

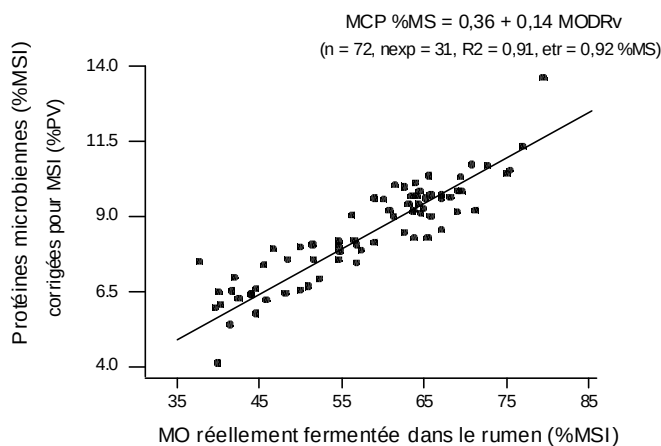


Fig. 4. Influence intra-essai de MODRv sur la synthèse de protéines microbiennes.
(les variations de MODRv étant déterminées par celles de ADR)

Cependant, l'efficacité de la croissance microbienne (% de protéines synthétisées par unité de MODRv) peut être modifiée par les conditions ruminales. Ainsi, l'efficacité microbienne diminue de façon significative lorsque la quantité de MODRv augmente: **Eff = 31,49 - 0,14 MODRv** ($n = 108$, $n_{\text{exp}} = 46$, $R^2 = 0,95$, $\text{etr} = 2,4$ %). Cet effet pourrait traduire une inhibition de cette efficacité par modification de certains paramètres écologiques du rumen. Toutes les relations présentées ont été observées pour des teneurs en ADR inférieures à 30 % MS. Au-

delà de ce seuil, les relations n'étaient plus pertinentes. La protéosynthèse pouvait d'ailleurs être alors nettement inhibée comme cela avait été indiqué par Sauvant (1997a).

Ces résultats peuvent permettre de mieux contrôler les apports en nutriments, notamment en amidon, chez les ruminants. Les phénomènes liés aux interactions microbiennes sont généralement peu représentés dans les systèmes d'alimentation. Les modèles du rumen ont déjà commencé à intégrer certaines interactions, notamment la baisse de digestibilité des fibres pour des régimes riches en ADR associés à de faibles pH ruminiaux. Cependant, la représentation des effets du pH sur la digestion des fibres diffère encore largement selon les modèles (Dijkstra et Bannink, 2000). D'autres recherches doivent encore être entreprises pour intégrer au mieux ces interactions dans les systèmes d'alimentation et dans les modèles de fonctionnement du rumen.

6. Propositions pour le développement d'un modèle mécaniste de la digestion de l'amidon

Les études précédentes ont été plutôt basées sur une approche empirique des phénomènes digestifs. L'analyse des bases de données a par exemple permis d'aboutir au développement d'équations de prédiction de la digestion de l'amidon (Offner et Sauvant, 2003a). Dans cette partie, nous proposons une approche visant à modéliser de façon mécaniste et dynamique la digestion de l'amidon chez les ruminants.

Structure d'un modèle mécaniste de la digestion de l'amidon:

La figure 1 présente la structure générale d'un modèle mécaniste de digestion de l'amidon. Cette structure a été établie à partir des études précédentes (Offner et Sauvant, 2003a). Certains aspects proposés par Mills et al. (1999ab) ont également été intégrés dans le modèle. Les compartiments liés à l'amidon ingéré ont été définis à partir de paramètres *in sacco* (Offner et al., 2003). Selon l'équation de Ørskov et McDonald (1979), deux fractions d'amidon peuvent être définies: la fraction soluble et la fraction potentiellement dégradable. Compte tenu des différences de transit entre concentré et fourrage, nous avons en fait distingué trois compartiments: amidon soluble (A), amidon dégradable provenant des concentrés (B1) et amidon dégradable provenant des fourrages (B2). Le modèle de digestion de l'amidon ainsi constitué est composé d'un ensemble de 13 compartiments représentant les fractions glucidiques, de type amidon et hexose (g), le compartiment microbien (g de MS microbienne) et les AGV (moles). Chaque compartiment peut se définir par une équation différentielle représentant la différence entre les flux entrant et les flux sortant dans le compartiment.

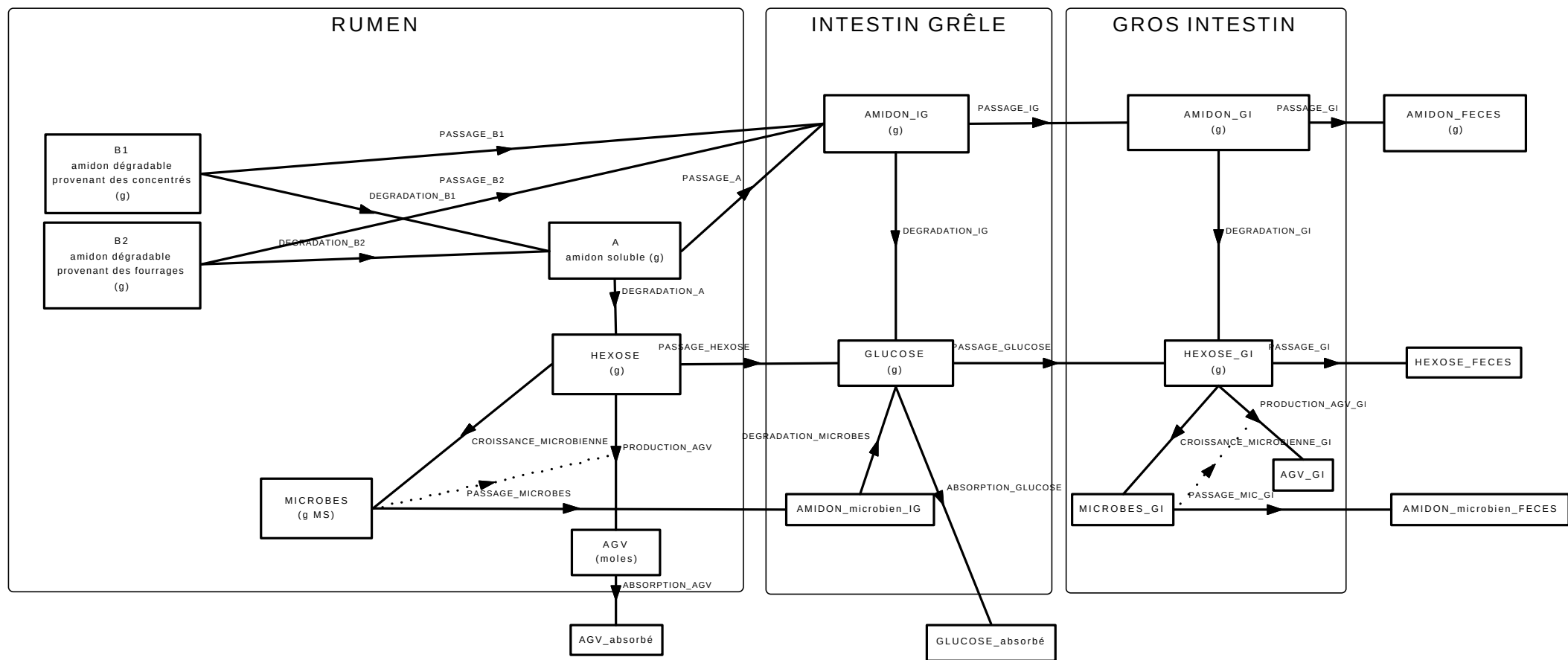


Fig. 1. Structure d'un modèle mécaniste de la digestion de l'amidon chez les ruminants.

Paramétrage du modèle:

Certains paramètres nécessaires au fonctionnement du modèle proposé peuvent être estimés ou obtenus à partir de données de la littérature (Tableau 1).

Tableau 1

Constantes utilisées dans le modèle

Définition	Valeurs	Références
Efficacité de la croissance microbienne	0,3 g MS/g hexose	
Taux de formation des AGV à partir des hexoses	0,0084 mol/g hexose	
Constante d'affinité pour l'absorption des AGV	0,09 mol	(Lescoat et Sauvant 1995)
Taux de passage dans l'intestin grêle	0,5 /h	
Constante d'affinité pour l'absorption du glucose	2 g	(Bernier et al. 1988, Okine et al. 1994, Bastianelli et al. 1996)
Vitesse maximale d'absorption du glucose	60 g/h	(Bernier et al. 1988, Bastianelli et al. 1996)
Taux de passage dans le gros intestin	0,1 /h	(Vega et al. 1998, Mills et al. 2001)
Volume du gros intestin	48,6 L	

D'autres paramètres clés, particulièrement les taux fractionnaires de dégradation (k_d) et de passage (k_p), sont plus difficiles à estimer. L'objectif a alors été d'optimiser l'information disponible dans la base de données *in vivo* (128 références, 316 traitements) pour expliciter ces paramètres à partir de facteurs simples, tels que le niveau de matière sèche ingérée (MSI) et la quantité d'amidon ingérée (AMI). Nous avons également utilisé le ratio acétate sur propionate (A/P) qui était un bon indicateur des fermentations ruminales (Tableau 2).

Tableau 2

Paramètres variables du modèle

Définition	Paramètres influents
Taux de passage des concentrés dans le rumen	MSI
_____ des fourrages dans le rumen	MSI
_____ de la phase liquide dans le rumen	MSI
Taux de dégradation de la fraction A de l'amidon dans le rumen	$kd_{sacco, A/P}$
_____ de la fraction B1 de l'amidon dans le rumen	$kd_{sacco, A/P}$
_____ de la fraction B2 de l'amidon dans le rumen	$kd_{sacco, A/P}$
_____ de l'amidon dans l'intestin grêle	
_____ de l'amidon dans le gros intestin	MSI, AMI

La méthode d'optimisation développée s'appuie sur les valeurs de digestibilité de l'amidon dans les différents organes (d_{RAM} , d_{GAM} , d_{GIAM}). Ces valeurs étaient soit observées dans la base de données (d_{RAM_o}) soit simulées par le modèle (d_{RAM_s}). La procédure d'optimisation calcule le carré de la différence entre les valeurs observées et les valeurs

simulées de chaque observation, par exemple $(d_{RAMO} - d_{RAMS})^2$, et minimise la somme des carrées des erreurs obtenues à partir de l'ensemble des données. Cette opération peut être réalisée avec Excel ou SAS. L'optimisation a été conduite par étapes successives afin d'obtenir des résultats réalistes. Nous avons d'abord fixé les valeurs de certains paramètres (par exemple: $kd_A \approx 2,5 \text{ h}^{-1}$, $kd_{B2} \approx 0,07 \text{ h}^{-1}$) pour ne pas faire une optimisation simultanée d'un trop grand nombre de paramètres. D'autre part, nous avons travaillé à partir de sous-groupes de données pouvant permettre d'éliminer l'influence de certains facteurs. Un groupe de données (139 traitements) ne contenant aucun apport d'amidon via les fourrages ($B2 = 0$) a par exemple été sélectionné. Un autre sous-groupe (29 traitements) contenait les informations concernant les taux de passage de la phase liquide dans le rumen.

Cette démarche a été difficile à mettre en oeuvre pour aboutir à des estimations des paramètres cohérentes avec leur signification biologique. Voilà cependant un exemple de résultats obtenus:

- Taux de dégradation de la fraction B1 dans le rumen: **$kd_{sacco} \approx 0,5 \approx A/P$**

- Taux de passage de la phase liquide dans le rumen: **$0,04 \approx MSI (\% PV)$** .

Le taux de passage de la phase liquide était estimé en moyenne à $0,09 \text{ h}^{-1}$ (0,04 - 0,17).

- Taux de passage des concentrés dans le rumen: **$0,026 + 0,0058 \approx MSI (\% PV)$** .

Le taux de passage des concentrés était donc estimé en moyenne à $0,04 \text{ h}^{-1}$ (0,03 - 0,07).

- Taux de dégradation au niveau du gros intestin ($n = 44$, $R^2 = 0,34$, $et = 0,066 \text{ h}^{-1}$):

$kd_{GI} (/h) = - 0,0712 + 0,109 MSI (\% PV) - 0,007 MSI (\% PV) \approx AMI (kg/d)$

Comparées aux équations empiriques proposées précédemment, les simulations du modèle mécaniste n'ont pour l'instant pas permis d'améliorer la prédiction de la partition digestive de l'amidon. Néanmoins, l'utilisation d'un modèle dynamique présente d'autres avantages. Notamment, il permet de simuler l'évolution des compartiments d'amidon au cours du temps. Les données expérimentales *in vivo* ne fournissent pas l'information permettant de valider cette dynamique. Au niveau du rumen, les cinétiques de dégradation *in sacco* pourraient être utilisées, il faudrait cependant tenir compte des différences observées entre les résultats *in sacco* et ceux *in vivo*.

7. Conclusion partielle

Cette étude a permis d'avancer vers une meilleure prédiction de la digestion de l'amidon chez les ruminants. Des valeurs « tables » de la dégradabilité théorique de l'amidon des aliments *in sacco* ont été établies et permettent de prédire la digestibilité de l'amidon des rations *in vivo*. Les résultats de notre travail ont souligné le rôle et l'importance d'une quantification des principaux produits de la digestion. L'analyse quantitative de bases de données a permis de dégager des lois de réponses multiples et d'envisager la prise en compte de ces effets dans le développement de nouveaux systèmes.

Le bilan de ces études montre les conséquences des variations des teneurs en amidon dégradable dans le rumen. Une augmentation de 10 points de MS entraîne:

- ↗ MODRv (+ 6 % MS), MCP (+ 0,85 % MS)
- ↘ drNDF (- 6,3 %), dNDF (- 2,7 %)
- ↘ pH (- 0,11), A/P (- 0,35)
- ↘ amidon digestible dans l'intestin grêle (- 3,5 % MS) ↘ glucose produit dans IG
- ↘ amidon digestible dans le gros intestin (- 2,8 % MS) ↘ AGV formés dans GI

Dans ce contexte, le taux butyreux du lait tend également à diminuer (- 0,36). Cependant, les réponses zootechniques ont peu été abordées dans notre étude.

Partie III.

**Développement d'un modèle du
métabolisme ruminal basé sur les lois
thermodynamiques**

1. Thermodynamic modeling of ruminal fermentations

article en préparation

modèle présenté en annexe 4

Thermodynamic modeling of ruminal fermentations

Anne Offner, Daniel Sauvant *

Physiologie de la Nutrition et Alimentation, Institut National de la Recherche Agronomique,
16 rue Claude Bernard, 75231 Paris Cedex 05, France

* Corresponding author. Tel.: +33-144-081-755; fax: +33-144-081-853.

E-mail address: sauvant@inapg.inra.fr (D. Sauvant).

Keywords: model; rumen; thermodynamic laws;

1. Introduction

During the last decades, farm animal models and feed evaluation systems have been developed in most industrialized countries. The role of the rumen in the nutritional responses of the ruminant to its diet is essential. Models of whole rumen function have been proposed (Baldwin et al., 1987; Russell et al., 1992; Dijkstra, 1993; Lescoat and Sauvant, 1995). However, they contained no mechanistic means to predict the variation of carbon partition between microbes, gas and volatile fatty acids (VFA) (Sauvant et al., 1995a). Their validation for the prediction of VFA profile pointed out that simulations were not entirely satisfactory (Dijkstra and France, 1995; Bannink and Visser, 1997). Regarding the importance of these products in the energetic metabolism response of the animal (Dijkstra, 1994), the current study intended to focus on this aspect. It was assumed that the failures of current published models in C flows partition were mainly caused by their lack to account for any thermodynamic principles.

For a given bacterial species, the metabolic pathways and flows are mainly determined by the enzymatic environment, which is the outcome of the cell's genetic material. Therefore, in a monoculture, kinetic laws are more important than thermodynamic ones. In contrast, in the case of a highly diversified microflora, like in the rumen, the numerous metabolic pathways are *a priori* possible. So, it can be assumed that emerging species and metabolic pathways are those which optimize their thermodynamic yield. Consequently, in the rumen, thermodynamic laws could play a more driving role than kinetic ones. Some global thermodynamic approaches of microbial ecosystems have already been developed. They were mainly based on the use of macrochemical equations expressing system inputs and outputs and they took into account principles of Gibbs energy (Heijnen and van Dijken, 1992; van Milgen, 2002). In such a background, linear programming study

was also conducted to represent the balance of the different components (Sauvant, personal communication). Kohn and Boston (2000) developed a dynamic model of glucose fermentation based on thermodynamic limits. However, the thermodynamic efficiencies were estimated for typical rumen conditions and were not in interaction with simulated rumen conditions. Thus, a thermodynamic driven model of ruminal fermentation has been developed with the objective to predict variations in C flows to VFA, gas and microbial biomass.

2. Materials and methods

2.1. Application of thermodynamic principles in mathematical modeling

Thermodynamic principles stated that spontaneous processes have a negative Gibbs energy change ($\Delta_r G < 0$). In this situation, the system releases energy to its surroundings as the process occurs. This principle was the current working assumption and the size of the Gibbs energy change constituted the driving force of biochemical reactions occurring in the rumen. Thermodynamic principles applied to biochemical reactions were integrated in the model. Let consider a reversible reaction: $aA + bB \xrightleftharpoons[k_2]{k_1} cC + dD$, where the symbols A and B stand for the reactants of the reaction and the symbols C and D stand for the products of the reaction. k_1 is the rate constant for the forward reaction, k_2 is the rate constant for the reverse reaction. In writing biochemical equations, the correct stoichiometric coefficients (a, b, c, d) should be used to respect the conservation of the atoms (C, H, O...) and to balance the electric charge if necessary. The overall rate (r) of the reaction can then be defined by:

$$r(t) = -\frac{1}{a} \times \frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b} \times \frac{d[B]}{dt} = \frac{1}{c} \times \frac{d[C]}{dt} = \frac{1}{d} \times \frac{d[D]}{dt} \quad (I)$$

Thus, biochemical reactions can be modeled with differential equations, describing the time evolution of the concentrations of the various chemical species. The rate law can also be

$$\text{written: } r(t) = k_1 [A]^a [B]^b - k_2 [C]^c [D]^d \quad (II)$$

Equations (I) and (II) were the basic concepts for the construction of the current dynamic model of biochemical reactions.

Thermodynamic principles help to determine the rate constants for forward (k_1) and reverse (k_2) reactions. The change in Gibbs energy ($\Delta_r G$, kJ/mol) of the reaction is given by:

$$\Delta_r G = \Delta_r G^\circ + RT \ln (K) \quad \text{with } K = \frac{[C]^c \times [D]^d}{[A]^a \times [B]^b} \quad (III)$$

$\Delta_r G^\circ$ represents the standard Gibbs energy change ($T = 298 \text{ K}$, $[x]=1$), R the gas constant, T the temperature in Kelvin, $[x]$ the activities of reactants and products expressed as a concentration in mol/L or as pressure in atmosphere.

The thermodynamic laws could help to predict if a reaction will happen based on the principle that substances tend to react to achieve the lowest energy state. Whenever the Gibbs energy change is negative the process is spontaneous. In a closed system, the Gibbs energy decreases to $\Delta_r G = 0$, which corresponds to a dynamic equilibrium. When this thermodynamic equilibrium is reached, the equilibrium constant of the reaction (K_{eq}) can be specified from equations (II) and (III).

$$(II) \quad r(t) = 0 \Leftrightarrow K_{eq} = \frac{k_1}{k_2} \quad (IV)$$

$$(III) \quad \Delta_r G = 0 \Leftrightarrow K_{eq} = e^{\frac{-\Delta_r G^\circ}{RT}} \quad (V)$$

K_{eq} is determined with the standard Gibbs energy change ($\Delta_r G^\circ$) values, which can be calculated from tabulated thermodynamic data. Thus, in the model, the dynamic differential equations were written for each molecule involved in a reaction as below for A:

$$\frac{d[A]}{dt} = -a k_1 [A]^a [B]^b + a \frac{k_1}{K_{eq}} [C]^c [D]^d \quad (VI)$$

These principles can be applied for oxidation-reduction reactions with electrons (e^-) and protons (H^+) exchanges, which are common in the rumen: $a Ox + ne^- + cH^+ \rightleftharpoons b Red$, n is the number of electrons transferred in the half-reaction. The Nernst's equation is also used to calculate the redox potential (E , volt) of the reaction:

$$E = E^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Ox]^a [H^+]^c}{[Red]^b} \quad (VII)$$

$$E = E'_{pH} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Ox]^a}{[Red]^b} \quad \text{with } E'_{pH} = E^\circ + c \times \frac{RT}{nF} \times \ln(10) \times pH$$

where E° is the standard redox potential of the half-reaction ($T = 298 K$, $pH = 0$), E'_{pH} is the standard redox potential for a given pH, F is the Faraday constant.

Two half-reactions should be coupled to achieve the electron balance. The electrons are then transferred from the reduction couple (E_{red}) to the oxidation couple (E_{ox}). The variation of Gibbs energy ($\Delta_r G$) is proportional to the redox potential of the electrochemical cell (ΔE) for the cell reaction:

$$\Delta_r G = -nF (E_{ox} - E_{red}) = -nF \Delta E \quad (VIII)$$

2.2. Model development

The model of ruminal fermentations has been developed around 23 compartments corresponding to the major biochemical molecules. Moreover, another compartment represents microbial dry matter. The compartments are expressed in mol/L for solutions, in atm for gas and in g/L for microbial dry matter. Each of them is defined by a dynamic differential equation representing the difference between inflows and outflows in the compartment. The reactions are considered to be reversible and thermodynamic laws presented previously (IV) were used in the model. The Forrester diagram of the model is summarized in figure 1. The equations, the variables and the parameters are listed in the annex 4. The model has been developed using Dynamo language (Pugh-Roberts, 1986). Euler integration method was used for the numerical integration of the 24 dynamic differential equations with a step time of 0.1 min. The simulation time was 4 days in order to reach a dynamic equilibrium. Simulation of day 4 was presented in the results. Feeding occurred at the beginning of each day.

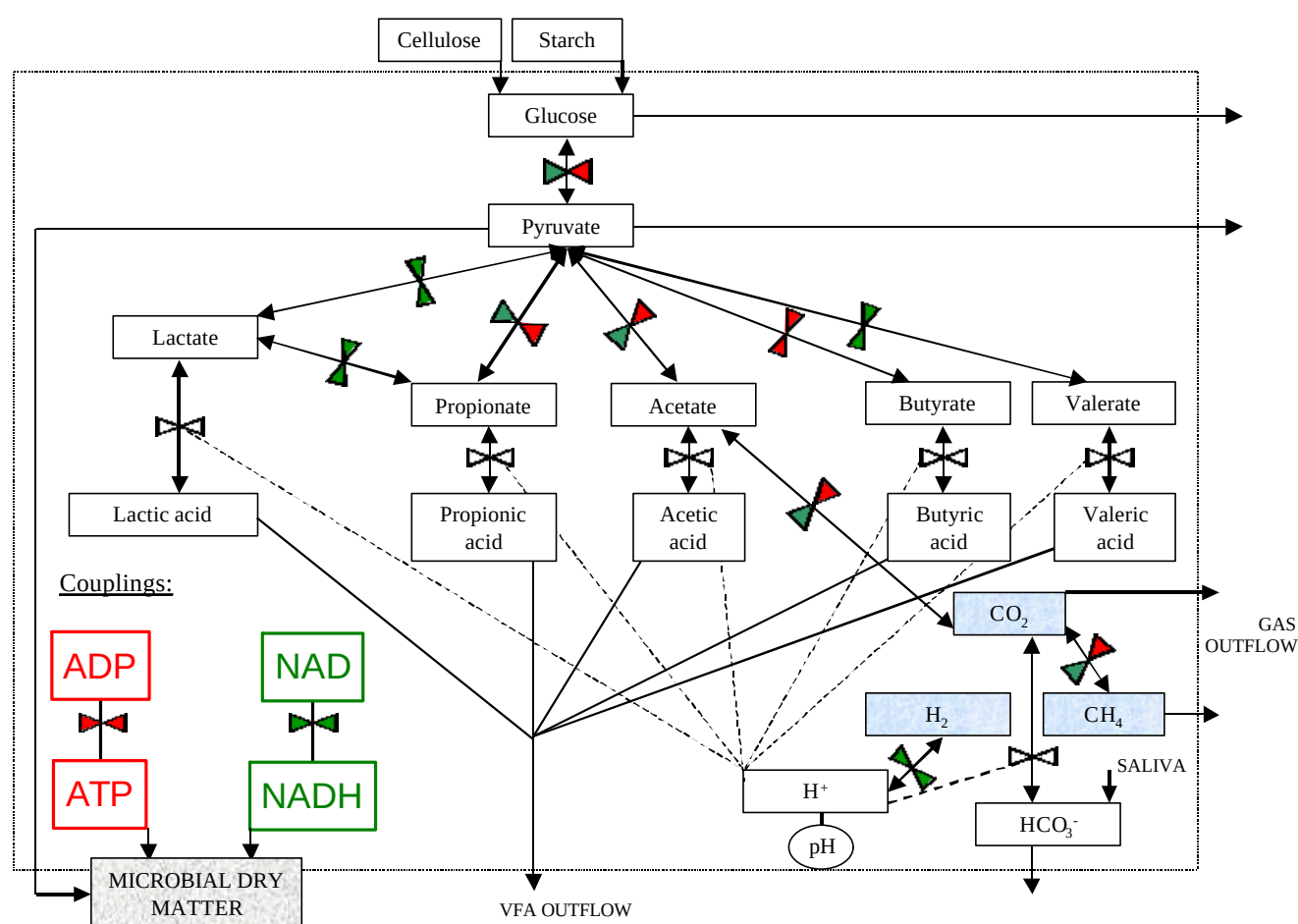
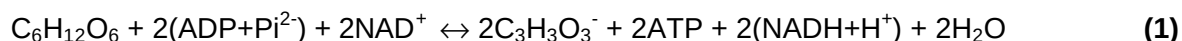


Fig.1. Simplified Forrester diagram to model fermentation pathways in the rumen.

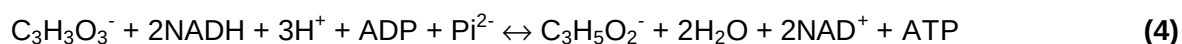
Model compartments

Soluble carbohydrates

The system simulated a daily "bolus" intake of cellulose (50 moles) and degradable starch (25 moles), main carbohydrate constituents ingested by the animal. Both were degraded into glucose, with assumed rates of 0.08 and 0.3 %/min respectively. Glucose was then converted to pyruvate by glycolysis, which is summarized by one reaction:



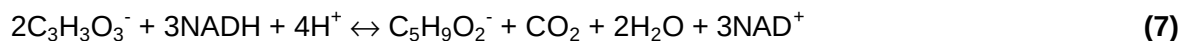
The pyruvate formed was converted in volatile fatty acids. Two ways led to the formation of **propionate**. The pyruvate can be reduced to propionate by the lactate pathway (2,3) or by the succinate pathway (4):



Pyruvate can also be oxidized into acetylCoA, precursor of **acetate** and **butyrate**. Reactions for acetate (C_2) and butyrate (C_4) formation are:



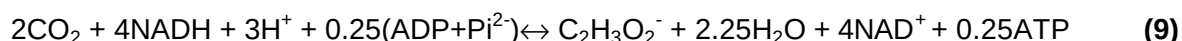
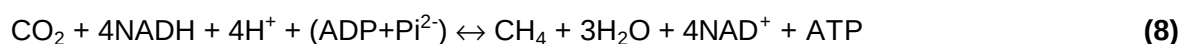
Pyruvate can also lead to the formation of **minor VFA** in C_5 or C_6 , like valerate:



VFA leave the system with an outflow rate of 0.5 %/min corresponding approximately to their transit and absorption across the rumen.

Gas

Carbon dioxide is formed during reactions (5), (6) and (7). Carbon dioxide can be utilized for either methanogenesis or acetogenesis. The two reactions are assumed to be associated with the formation of 1 and 0.25 mol of ATP respectively.



Hydrogen can be formed from H^+ by an oxidation-reduction reaction:



CO_2 , CH_4 and H_2 activities were expressed in atm. When gas pressure in the rumen was above 1 atm., the gas could escape the rumen depending on their respective proportions (Kohn and Boston, 2000).

Regulatory components

The protons H^+ are significantly involved in several reactions:

- formation of carbon dioxide from bicarbonate ions HCO_3^- coming from saliva (inflow of 0.01 mol/L/min):



- formation of hydrogen by oxidation-reduction according to reaction (10),
- equilibrium between formed anions and corresponding acids:



The pH had an influence on all the reactions where it is involved in the determination of equilibrium constants.

All oxidation-reduction reactions (1-5 and 7-10) are coupled with $NAD^+/NADH$. In a closed system, the dynamic equilibrium is reached when $\Delta G = \Delta E = 0$. An open system is never at equilibrium, $\Delta E \neq 0$, therefore the convergence of the redox potentials of the different reactions over time is *a priori* not possible to obtain. However, the average redox potential of the rumen (E_{mean}) was defined by the weighed average of the redox potentials of each couple (E_i). The weighting coefficients were proportional to the amount of the oxidized and reduced forms of each oxidation-reduction couple. For a given oxidation-reduction couple, reaction flows have been considered as an exponential function of the difference between E_{mean} and E_i . This principle was previously applied in modeling (Lovatto and Sauvant, 2003). The objective was to favor the convergence of the redox potentials to the average value.

Finally, ATP is produced by fermentation processes (1, 4, 5, 6, 8, 9) and is used for maintenance and growth of microbes.

Microbial population

The amount of microbial dry matter in the rumen is regulated by flows related to growth, lysis and transit. The flows for growth and lysis are expressed as functions of the amount of microbial dry matter and the basal growth rate of microorganisms. The rates for growth and lysis are also largely dependent on the ATP/ADP ratio. Growth is defined as a positive exponential function of x , where $x = k \times (\frac{ATP}{ADP} - 1)$. This expression allowed to favor growth when energy status is positive. On the contrary, lysis is defined as a negative exponential function of x . The flow for transit simply follows a mass action law. ATP and NADH are required for microbial maintenance; this utilization depends on the amount of microbial dry matter, and for microbial growth. Carbon needed for microbial growth is assumed to come from pyruvate. The outflow of pyruvate changes with the apparent microbial growth. Microbial DM is supposed to contain 25 % carbon.

Model parameters - equilibrium constants

The equilibrium constant of each reaction was calculated from the thermodynamic values of all involved molecules. The table 1 gives the standard thermodynamic properties as they are found in thermodynamic tables and provides the standard formation properties for the standard state, which is the state in a hypothetical ideal solution with all activities set to 1. The standard enthalpy of formation ($\Delta_f H^\circ$) is not dependant on temperature, contrary to the standard Gibbs energy ($\Delta_f G^\circ$). The Van't Hoff equation linked the two parameters to calculate values of $\Delta_f G^\circ$ for different temperatures.

Table 1

Thermodynamic properties for compounds of ruminal metabolism:

standard Gibbs energy and enthalpy of formation. $\Delta_f G^\circ$ and $\Delta_f H^\circ$ expressed in kJ/mol, pH = 0

	$\Delta_f G^\circ$ at 298 K	$\Delta_f H^\circ$	$\Delta_f G^\circ$ at 311 K ^g	References:
Glucose ^{a,b,d}	-916.97	-1263.78	-901.84	^a (Kohn et al., 2000)
Pyruvate ^{b,c}	-474.50	-596.60	-469.17	^b (Metzler, 1977)
Lactate ^{a,b,d}	-516.72	-686.64	-509.31	^c (Laidler, 1980)
Propionate ^{b,f}	-360.00	-511.08	-353.41	^d (Tinoco et al., 1985)
Acetate ^{a,c,d}	-369.60	-485.60	-364.54	^e (Alberty, 1998)
Butyrate ^{a,d}	-372.04	-535.55	-364.91	^f (Stull et al., 1969)
Valerate ^f	-368.40	-556.80	-360.18	
HCO ₃ ⁻ (aq) ^{b,d}	-587.10	-692.29	-582.51	
H ₂ O (l) ^{a,b,d}	-237.19	-285.84	-235.07	
CO ₂ (g) ^{c,d}	-394.50	-393.60	-394.54	
CH ₄ (g) ^{a,d}	-50.79	-74.85	-49.74	
H ₂ (g) ^{a,b,d}	0	0	0	
H ⁺ ^{a,b,d}	0	0	0	
ADP ³⁻ ^e	-1711.55	-2005.24	-1698.74	
ATP ⁴⁻ ^e	-2573.49	-2997.91	-2554.98	
Pi ²⁻ ^b	-1094.10	-1294.00	-1085.38	
NAD ⁻ ^e	0	0	0	
NADH ²⁻ ^e	22.65	-31.94	25.03	

^g Values at rumen temperature T = 311 K were calculated using Van't Hoff equation:

$$\Delta_f G^\circ(T_2) = \frac{T_2}{T_1} \left(\Delta_f G^\circ(T_1) - \frac{T_1 - T_2}{T_1} \Delta_f H^\circ \right)$$

Knowing the standard Gibbs energy of formation for each compound, the standard change in Gibbs energy of a reaction was calculated with the following formula: $\Delta_r G^\circ = \sum \Delta_f G^\circ \text{ products} - \sum \Delta_f G^\circ \text{ reactants}$. The table 2 presents the change in standard Gibbs energy for key reactions in the rumen. Equilibrium constants (K_{eq}) could then be determined with equation (V). The rate constants for the reverse reaction were defined arbitrarily for the reactions, so that flows were realistic.

Table 2

Change in standard Gibbs energy for key reactions in the rumen, expressed in kJ/mol for various conditions of pH and temperature

	$\Delta_r G^\circ$ at 298 K	$\Delta_r G^\circ$ at 311 K	$\Delta_r G^\circ$ (pH)	$\Delta_r G^\circ$ (pH = 7) at 311 K
NAD <> NADH	22.65	25.03	$\Delta_r G^\circ + RT \ln(10) \times \text{pH}$	66.7
ADP <> ATP	-5.03	-5.93	$\Delta_r G^\circ + RT \ln(10) \times \text{pH}$	35.7
(1) Glu <> Pyr	1.7	3.2	$\Delta_r G^\circ - 2RT \ln(10) \times \text{pH}$	-80.2
(2) Pyr <> Lac	-65.2	-64.9	$\Delta_r G^\circ + RT \ln(10) \times \text{pH}$	-23.2
(3) Lac <> Pro	-104.2	-103.1	$\Delta_r G^\circ + RT \ln(10) \times \text{pH}$	-61.4
(4) Pyr <> Pro	-173.0	-175.3	$\Delta_r G^\circ + 3RT \ln(10) \times \text{pH}$	-50.3
(5) Pyr <> Ace	-35.7	-37.8	$\Delta_r G^\circ$	-37.8
(6) Pyr <> But	-221.6	-217.1	$\Delta_r G^\circ + 2RT \ln(10) \times \text{pH}$	-133.7
(7) Pyr <> Val	-356.6	-361.6	$\Delta_r G^\circ + 4RT \ln(10) \times \text{pH}$	-194.8
(8) CO₂ <> CH₄	-226.3	-231.4	$\Delta_r G^\circ + 5RT \ln(10) \times \text{pH}$	-23.0
(9) CO₂ <> Ace	-146.8	-147.2	$\Delta_r G^\circ + 3.25RT \ln(10) \times \text{pH}$	-22.2
(10) H⁺ <> H₂	-25.0	-22.6	$\Delta_r G^\circ + RT \ln(10) \times \text{pH}$	19.1
(11) HCO₃⁻ <> CO₂	-47.1	-44.5	$\Delta_r G^\circ + RT \ln(10) \times \text{pH}$	-2.8

Numerous fermentation processes are oxidation-reduction processes. Each oxidation-reduction couple can be characterized by its redox potential. The table 3 presents the redox potentials of the half-reactions of main oxidation-reduction equilibria occurring in the rumen. The redox potential in the rumen is around - 0.35 v. This thermodynamic condition is not in favor of pyruvate, lactate and H₂ accumulation.

For the reactions of acid dissociation (12-16), the equilibrium constants are defined by

$$K_a = 10^{-\text{pK}_a} = \frac{[A^-][H^+]}{[AH]}. \text{ The values of pK}_a \text{ for weak acids, correspond to the pH at which the}$$

acid is half dissociated: lactic acid 3.86, acetic acid 4.75, butyric acid 4.82, valeric acid 4.84 and propionic acid 4.87. These values indicate that for usual conditions of rumen pH ($6 < \text{pH} < 6.5$), VFA are largely present under the dissociated form.

Table 3

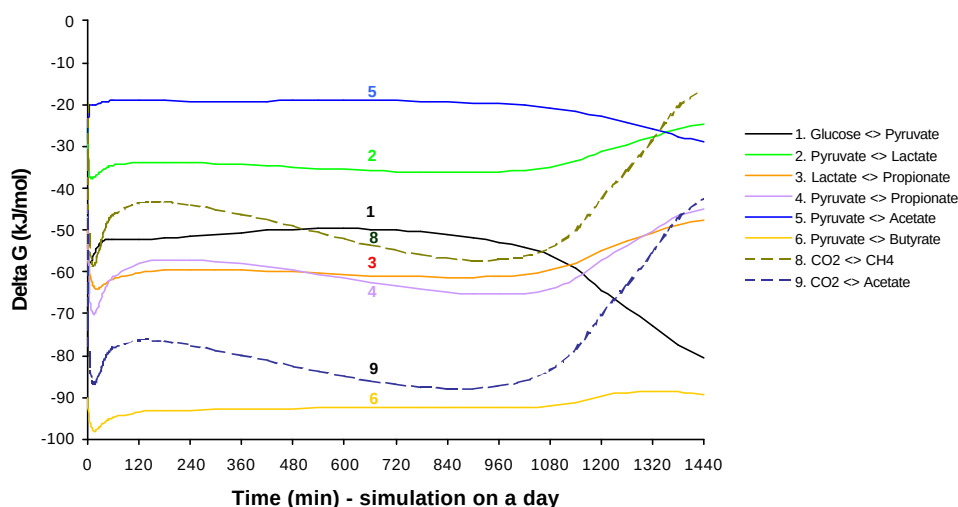
Redox potentials at pH = 0 and at pH = 7 and T = 311K

		E° (volt)	E'° (volt)	$\frac{[\text{Ox}]^a}{[\text{Red}]^b}$ for E=-0.35v
(7)	$2\text{Pyruvate}^- + 7\text{H}^+ + 6\text{e}^- \leftrightarrow \text{Valerate}^- + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	0.495	-0.009	6.98E-34
(3)	$\text{Lactate}^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{Propionate}^- + \text{H}_2\text{O}$	0.410	-0.022	2.34E-11
(4)	$\text{Pyruvate}^- + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \leftrightarrow \text{Propionate}^- + \text{H}_2\text{O}$	0.309	-0.123	1.93E-15
(2)	$\text{Pyruvate}^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{Lactate}^-$	0.208	-0.224	8.25E-05
(8)	$\text{CO}_2 + 8\text{H}^+ + 8\text{e}^- \leftrightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	0.161	-0.271	5.73E-11
(9)	$2\text{CO}_2 + 7\text{H}^+ + 8\text{e}^- \leftrightarrow \text{Acetate}^- + 2\text{H}_2\text{O}$	0.059	-0.319	9.57E-05
	$\text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{NADH}$	-0.130	-0.346	7.42E-01
(10)	$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{H}_2$	0	-0.432	4.55E+02
(5)	$\text{Acetate}^- + \text{CO}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{Pyruvate}^- + \text{H}_2\text{O}$	-0.284	-0.716	7.28E+11
(1)	$2\text{Pyruvate}^- + 6\text{H}^+ + 4\text{e}^- \leftrightarrow \text{Glucose}$	-0.095	-0.743	2.98E+25

3. Results

3.1. Thermodynamic validation

Simulated changes in Gibbs energy of the reactions ($\Delta_r G$) varied from 0 to -100 kJ/mol (Fig. 2). The negative values demonstrate that the reactions proceed in the spontaneous thermodynamic direction.


Fig.2. Change in Gibbs energy ($\Delta_r G$) for various key reactions in the rumen.

The system can either maximize the production of highly energetic molecules or minimize entropy (S) production depending on the energetic situation. There is a clear relationship between free energy and entropy production ($G = H - TS$). In case of energetic deficiency, the system tends to minimize the loss of free energy and so produces higher entropy. The system then favors the production of acetate. Sauviant et al. (1995b) report that in this case, ATP and NADH production per carbon of VFA is greater. On the contrary, in the most favorable situations, there is an adaptation to the energy and molecular hydrogen excess brought by the feeds; the system favors the production of longer chain VFA (propionate and minor VFA), leading to more molecular formation and order production. Therefore, this situation is associated with lower entropy due to higher order.

3.2. Study of glucose degradation and VFA profile

The simulations of glucose degradation showed, for thermodynamic reasons, that glucose offered a rather strong resistance to microbial degradation (Fig. 3). This was consistent with the presence of significant amount of soluble carbohydrate observed in the rumen (Maaroufi et al., 2000) or in vitro (Baran, 1982). This could partly be explained by the low concentrations of ADP and NAD in the rumen. These two molecules were absolutely necessary for glycolysis.

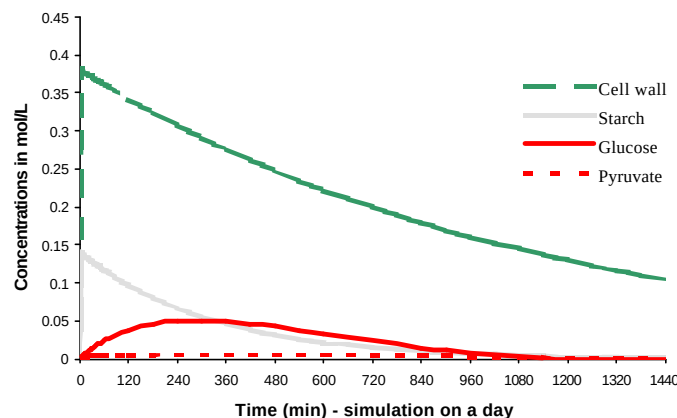


Fig.3. Degradation kinetics of cell wall and starch in the rumen.

Regarding the fluxes and partitions of VFA, the model reflected the dynamics and the stoichiometry of the rumen (Fig. 4). Feeding was followed by an increase of propionate at the expense of acetate and butyrate. A postprandial increase of the propionate to acetate and butyrate ratio is often observed experimentally (Giger-Reverdin et al., 2003). On the other hand, this phenomenon was exacerbated compared to experimental observations. The acetate to propionate ratio (A/P) ranged normally between 2 and 5. Simulated values of A/P could reach unrealistic value of 15 during transient periods, especially before feeding. The

A/P ratio was influenced by various factors, which are more or less linked to energy availability of the substrates. A literature review on starch digestion in the rumen indicated a decrease of A/P ratio with increasing amount of starch digestible in the rumen (Offner and Sauvant, 2002).

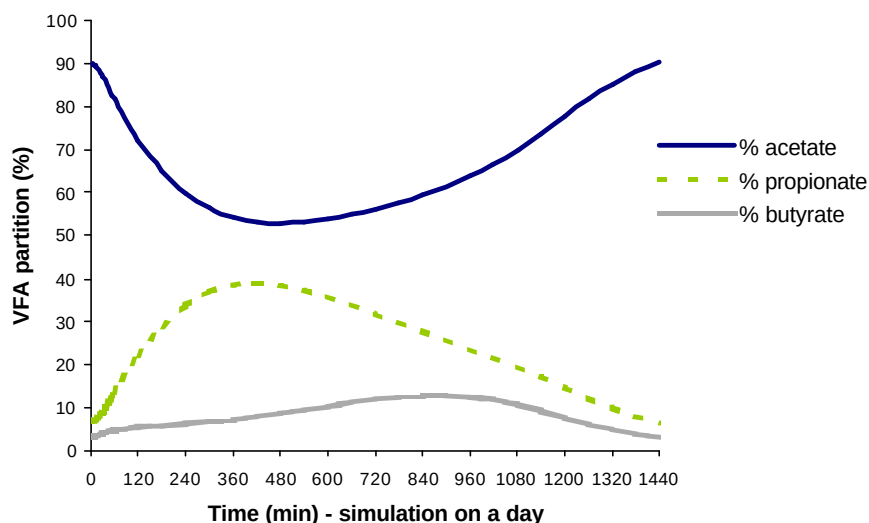


Fig.4. Evolution of acetate, propionate and butyrate proportions.

3.3. Study of regulatory parameters

Values taken by the pH were fairly realistic, ranging from 6.4 to 6.7; however, the evolution of pH during the day was not satisfactory because it was opposite to the experimental observations (Fig. 5). Indeed, after feeding, the increase in VFA production leads normally to a rapid drop of pH followed later by an increase of pH. A delay probably occurred in the model: H^+ ions played a role in acido-basic equilibrium after the formation of anions by the various metabolic pathways.

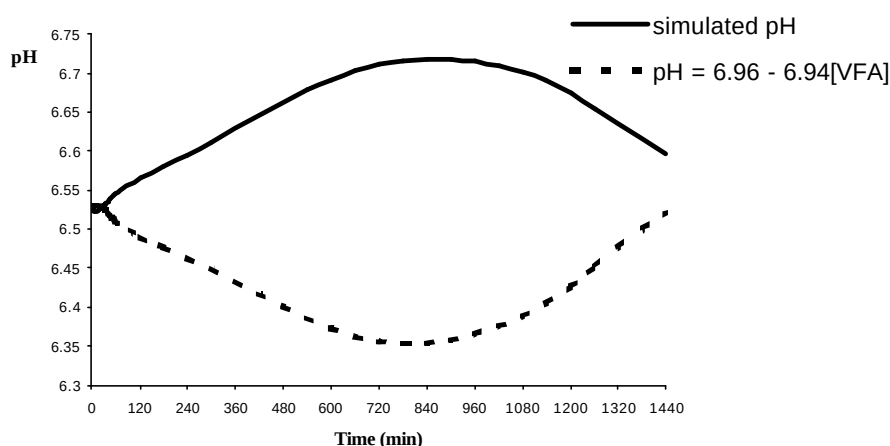


Fig. 5. Comparison between simulated pH and empirical pH determination from VFA concentration in the rumen.

The evolution of the energetic and the oxidation-reduction status of the rumen were fairly satisfactory. The ATP/ADP and NADH/NAD ratios first revealed energy intake by feeding, then energy utilization by microorganisms. The ATP/ADP ratio ranged between 0.1 and 5. The sensibility to the initial ratio was especially high. The figure 6 illustrated the differences simulated for ratios of 0.25, 1 and 2. Rumen conditions correspond rather to a ratio of 0.25. Acetate production was favored at the beginning when the energetic status of the ecosystem was low. This could be explained because ATP production per mole of utilized carbon was more important than in the case of acetate formation than other VFA. With the simulations, the redox potential ranged from - 0.4 to - 0.3 mv, which is fairly realistic. The most oxidized conditions were observed before feeding; this is similar to experimental observations (Barry et al., 1977; Marounek et al., 1982). As for ATP, the sensitivity to initial NADH/NAD ratio was great. The NADH/NAD ratio had a large influence on VFA partition. When the ratio was below 1, butyrate was preferred. On the other hand, acetate decreased significantly.

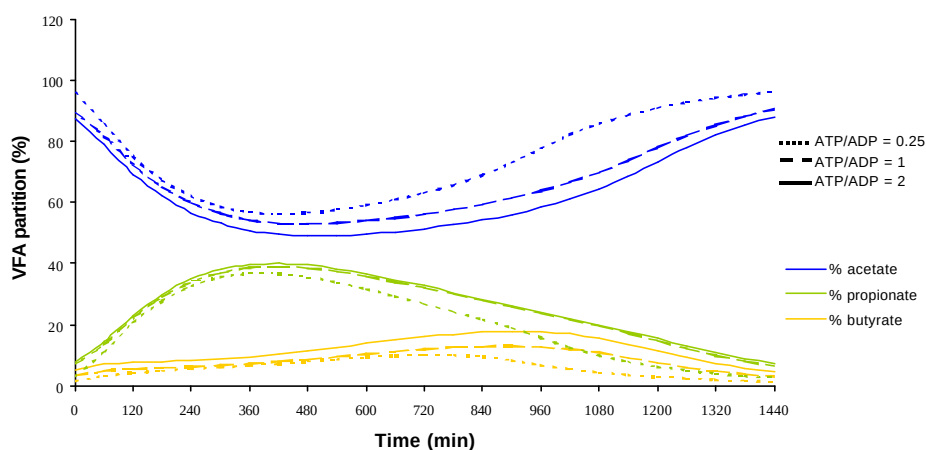


Fig. 6. VFA sensitivity to initial ATP/ADP ratio.

3.4. Study of methanogenesis and acetogenesis partition

The simulated fluxes for acetogenesis and methanogenesis (Fig. 7) were low compared to observed data. The acetogenesis always remained lower than methanogenesis, like in the rumen. Moreover, these two fluxes varied in the same direction and are closely linked with variations in NADH and NAD. Regarding gas production, the model was still not satisfactory because methane productions were too low. The assumption taken for gas outflow rates was probably to revise. However, few studies measured the different gas production during the day, the model validation remains limited.

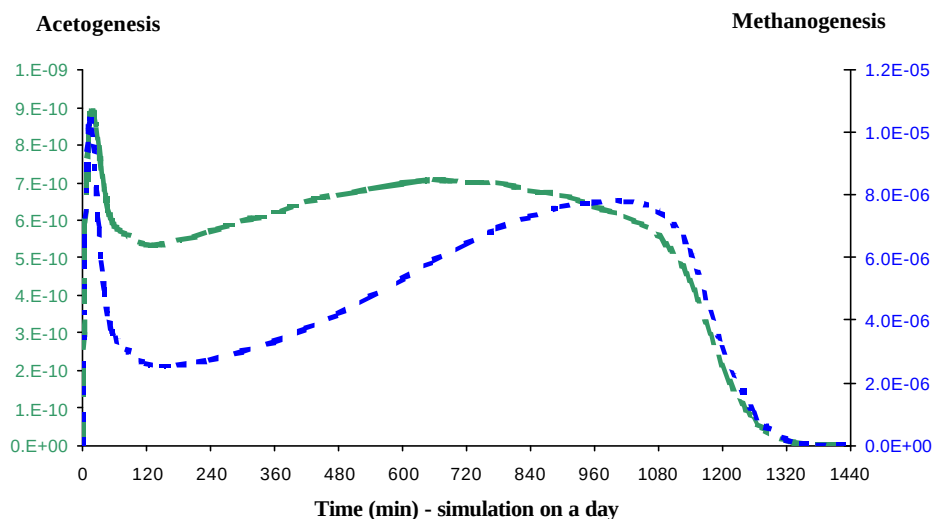


Fig. 7. Simulated fluxes of acetogenesis and methanogenesis.

4. Discussion

4.1. Potential and limits of the model

Until now, attempts to consider thermodynamic laws in rumen modeling were scarce and not exhaustive (Kohn and Boston, 2000). This study constituted an original approach, integrating the major thermodynamic laws to model the fermentation processes in a mechanistic way. This approach was the first attempt to describe biochemical equilibrium and to determine pH and redox potential. The ability of thermodynamic principles to explain some ruminal digestive phenomena was highlighted. The results of the simulations were rather satisfactory and realistic. The model was globally relevant and integrated the main known regulations: ATP and NADH were present in the metabolic equilibrium and so interacted on the intensity of the fermentations enlarging the first attempt of Sauvante et al. (1995b). The main driving forces of the model were given by the two ratios ATP/ADP and NADH/NAD. Rumen pH and redox potential changed and were also changed by the reactions.

However, some aspects of the model were not yet satisfactory. The lack of convergence of the redox potentials (to one single value), even for simulation lengths of ten days, remained a major problem. Indeed, the range of rumen redox potential could be extensive (Barry et al., 1977; Marounek et al., 1987) and this parameter might influence the concentrations of the different oxidation-reduction molecules. The lack of convergence could be explained in open systems, like the rumen, which exchanged matter with the surrounding area and that likely never reached thermodynamic equilibrium (Zilbergleyt, 2000). This result underlined that it was necessary to apply cautiously the thermodynamic laws described for closed systems. The H^+ metabolism should also be better represented. The simulated pH evolved in an opposite way compared to what was expected and this could probably be due

to a bad representation of acid dissociation reactions or of buffer-acid reactions. Moreover, the model was by construction non linear. The size and the turnover of the compartments varied to a great extent. These two properties made the model very sensitive and difficult to parameterize and to internally explore.

4.2. Proposals for further developments

At this stage, it seemed important to integrate a minimum of other information to define the parameters that were not determined by thermodynamic laws and to make the model more realistic. There was a need to include some new constraints to run the model, the kinetic laws would help to define such parameters, like the rates of products formation. Indeed, the potential outcome of a reaction is influenced by both thermodynamic factors (direction of the reaction, stability of the products) and kinetics factors (velocity of a reaction). Moreover, kinetic laws would specify if enzymes or cofactors do operate in the reactions and the consequences in term of reaction rates and laws. Mass action laws were only considered in the model. This study also highlighted the interest of experimental studies on the influence of change in chemical species concentrations. However, little experimental data were reported on this subject. The ratio ATP/ADP and NADH/NAD had a main influence on fermentation pathways, therefore, it seemed necessary to better quantify the microbial requirements for ATP and NADH (Erfle et al., 1986; Heijnen and Van Dijken, 1992). More *in vitro* studies on intracellular NAD/NADH ratio could bring valuable information (Hino and Russell, 1985). This research also raised some questions for modeling microbial dynamics (Dijkstra et al, 2002; Murphy and Sauvart, 2003). Populations ecology and biology laws are important when several microbial groups are involved. Rumen bacteria could be classified in several homogeneous groups according to metabolic criteria, end-products of fermentation, sensitivity to change in redox potential or pH (Stewart and Bryant, 1988). These parameters could be taken in account to build different microbial models. Ideally, a global model combining these sub-models could be developed with both thermodynamic laws, as the first assumption for a multi-species system, and the known interactions among the different microbial species (populations biology and ecology laws). Another issue raised by our research concerned the distinction of several rumen compartments. Indeed, the fermentations took place in microorganisms cytoplasm. The conditions there could be entirely different than the ruminal conditions. pH could especially change significantly. Our approach made no difference between intracellular and extracellular levels. Though there are few quantitative data on the relations among the different rumen compartments, it would be interesting to better characterize and possibly to distinguish a soluble fraction, a gaseous fraction, a contact area between dietary particles and microorganisms, and finally the rumen wall (Czerkawski and Cheng, 1988). Various aspects of the model required further

investigations; however, the results showed that the integration of thermodynamic laws in rumen models would certainly help to better predict fermentation pathways.

5. Conclusion

The model favors reactions following thermodynamic principles. Reaction rates are determined by their change in free energy. The reactions are supposed to be reversible and evolve in the way of a decrease in free energy. The tables of standard free energy for the different components, after adjustment for rumen temperature, allow to determine the various necessary constants. The model simulations represent adequately the post feeding evolution of main VFA proportions. Thermodynamic laws were therefore helpful to understand fermentation pathways. The model was developed to be linked fairly easily in whole rumen models, or to be completed by incorporated new reactions. However, difficulties arise during model development because the system is open and gather a network of metabolic reactions; the model being very sensitive. Some results were not entirely satisfactory, especially for pH and redox potential simulations. The thermodynamic laws, as represented, are not sufficient to explain all observed variations. Other driving forces from kinetics and population ecology and biology should also be taken in account.

Nomenclature

Symbol	Name	Unit
$[x]$	concentration of species x	mol/L
E	oxidation-reduction potential	V
F	Faraday constant (96 485.31 C/mol)	C/mol
G	extensive Gibbs energy of a system	kJ
$\Delta_r G$	reaction Gibbs energy for specified concentrations of species at specified T, P	kJ/mol
$\Delta_f G(x)$	Gibbs energy of formation of species x at specified T, P	kJ/mol
H	extensive enthalpy of a system	kJ
$\Delta_f H^0(x)$	standard enthalpy of formation of species x at specified T, P	kJ/mol
k_1, k_2	rate constant of the forward and reverse reaction	variable
K_{eq}	equilibrium constant for a specified reaction at specified T, P	dimensionless
n	number of electrons involved in a cell reaction	dimensionless
P	pressure	atm
pH	$-\log [H^+]$	dimensionless
R	gas constant (8.31451 J/K/mol)	J/K/mol
T	temperature	K
$r(t)$	rate of the reaction	mol/L/min

References

- Alberty, R.A., 1998. Calculation of standard transformed Gibbs energies and standard transformed enthalpies of biochemical reactants. *Arch. Biochem. Biophys.* 353, 1, 116-130.
- Baldwin, R.L., Thornley, J.H., Beever, D.E., 1987. Metabolism of the lactating cow II. Digestive elements of a mechanistic model. *J. Dairy Res.* 54, 107-131.
- Bannink, A., Visser, H.D., 1997. Comparison of mechanistic rumen models on mathematical formulation of extramicrobial and microbial processes. *J. Dairy Sci.* 80, 1296-1314.
- Baran, M., 1982. The fermentation of glucose in small artificial rumen. *Arch. Tierernähr.* 32, 779-788.
- Barry, T.N., Thompson, A., Armstrong, D.G., 1977. Rumen fermentation studies on two contrasting diets. *J. Agr. Sci.* 89, 183-195.
- Czerkawski, J.W., Cheng, K.J., 1988. Compartmentation in the rumen. In: *The Rumen Microbial Ecosystem*. Hobson, P. N. (ed.), Elsevier Applied Science, 361-386.
- Dijkstra, J., 1993. Mathematical modelling and integration of rumen fermentation processes. PhD thesis, department of Animal Nutrition, Wageningen Agricultural University, 221p.
- Dijkstra, J., 1994. Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. *Livest. Prod. Sci.* 39, 61-69.
- Dijkstra, J., France, J., 1995. A comparative evaluation of models of whole rumen function. In: *Methods in Modelling Herbivore Nutrition*, Paris, France, 31p.
- Dijkstra, J., Mills, J.A.N., France, J., 2002. The role of dynamic modelling in understanding the microbial contribution to rumen function. *Nutr. Res. Rev.* 15, 67-90.
- Erfle, J.D., Sauer, F.D., Mahadevan, S., 1986. Energy metabolism in rumen microbes. In: *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Milligan, L.P., Grovum, W.L., Dobson, A. (eds), Prentice Hall, 81-99.
- Giger-Reverdin, S., Le Pierres, J.L., Duvaux-Ponter, C., Morand-Fehr, P., Tessier, J., Dupas, G., Martin, O., Rouzeau, A., Sauvant, D., 2003. Influence of the degree of dietary fatty acid unsaturation on rumen fermentation parameters. *Options Méditerranéennes* (accepted).
- Heijnen, J.J., van Dijken, J.P., 1992. In search of a thermodynamic description of biomass yields for the chemotrophic growth of microorganisms. *Biotechnol. Bioeng.* 39, 833-858.
- Hino, T., Russell, J.B., 1985. Effect of reducing-equivalent disposal and NADH/NAD on deamination of amino acids by intact rumen microorganisms and their cell extracts. *Appl. Environ. Microb.* 50, 1368-1374.

- Kohn, R.A., Boston, R.C., 2000. The role of thermodynamics in controlling rumen metabolism. In: *Modelling Nutrient Utilization in Farm Animals*. McNamara, J.P., France, J., Beever, D.E. (eds), CAB international, 11-24.
- Laidler, K.J., 1980. *Physical Chemistry with Biological Applications*. Addison Wesley, 587p.
- Lescoat, P., Sauvant, D., 1995. Development of a mechanistic model for rumen digestion validated using the duodenal flux of amino acids. *Reprod. Nutr. Dev.* 35, 45-70.
- Lovatto, P.A., Sauvant, D., 2003. Modeling homeorhetic and homeostatic controls of pig growth. *J. Anim. Sci.* 81, 683-696.
- Maaroufi, C., Giger-Reverdin, S., Sauvant, D., 2000. Relationships between post-prandial pH drop and rumen soluble carbohydrates concentration. *Reprod. Nutr. Dev.* 40, 208.
- Marounek, M., Bartos, S., Kalachnyuk, G.I., 1982. Dynamics of the redox potential and rH of the rumen fluid of goats. *Physiol. Bohemoslov.* 31, 369-374.
- Marounek, M., Roubal, P., Bartos, S., 1987. The redox potential, rH and pH values in the gastrointestinal tract of small ruminants. *Physiol. Bohemoslov.* 36, 71-74.
- Metzler, D.E., 1977. *Biochemistry: the chemical reactions of living cells*, Academic Press, NY, 1129p.
- Murphy, M.R., Sauvant, D., 2003. Meta-analysis of interactions between major rumen fibrolytic bacteria in solubilizing and utilizing substrates. (submitted).
- Offner, A., Sauvant, D., 2002. Digestive interactions: responses to some variations of the amount of starch digestible in the rumen. Book of abstracts of the 53rd Annual Meeting of the EAAP n° 8. Cairo, Egypt, 1-4 September 2002, p. 57.
- Pugh-Roberts, 1986. *Professional Dynamo Plus. Reference manual*. Pugh-Roberts Associates, Cambridge, MA.
- Russell, J.B., O'Connor, J.D., Fox, D.G., van Soest, P.J., Sniffen, C.J., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. *J. Anim. Sci.* 70, 3551-3561.
- Sauvant, D., Dijkstra, J., Mertens, D., 1995a. Optimisation of ruminal digestion: a modelling approach. In: *Recent developments in the nutrition of herbivores*. Journet, M., Grenet, E., Farce, M.-H., Theriez, M., Demarquilly, C. (eds), INRA editions, 143-165.
- Sauvant, D., van Milgen, J., Lescoat, P., 1995b. Modélisation de la régulation de la stoechiométrie des fermentations ruminales par la disponibilité en ATP et en NADH₂. *Ann. Zootech.* 44, suppl. 1: 167.
- Stewart, C.S., Bryant, M.P., 1988. The rumen bacteria. In: *The Rumen Microbial Ecosystem*. Hobson, P.N. (ed.), Elsevier Applied Science, 21-76.
- Stull, D.R., Westrum, E.F., Sinke, G.C., 1969. *The Chemical Thermodynamics of Organic Compounds*, Wiley J., NY, 865p.

- Tinoco, I., Sauer, K., Wang, J.C., 1985. Physical Chemistry: principles and applications in biological sciences, Prentice Hall, 2nd edition, 706p.
- van Milgen, J., 2002. Modeling biochemical aspects of energy metabolism in mammals. J. Nutr. 132, 3195-3202.
- Zilbergleyr, B.J., 2000. Thermodynamic equilibrium in open chemical systems. Chem. Physics, LANL printed archives, 04.19/2000.

2. Etude expérimentale des effets du pH, de Ev et de H₂ sur l'activité fermentaire des microorganismes du rumen

Ce travail a été réalisé avec la collaboration de Laurent Broudiscou, chargé de recherche à l'UMR Physiologie de la Nutrition et Alimentation.

2.1. Introduction

Les modèles du rumen actuellement développés ne permettent pas de prédire de façon satisfaisante la ~~stœ~~stœchiométrie des flux de produits carbonés provenant des fermentations microbiennes (acides gras volatils, gaz, biomasse microbienne). Généralement, la modélisation des fermentations fait intervenir un contrôle par les principes de la cinétique. Les modèles s'appuient pour la plupart sur les relations stœchiométriques moyennes établies par Murphy et al. (1982) sur la base d'observations *in vivo*. Pour une espèce bactérienne donnée, les voies fermentaires sont déterminées par l'équipement enzymatique donc essentiellement par le patrimoine génétique de la cellule. Dans une monoculture, les lois de la cinétique sont plus déterminantes que les lois de la thermodynamique. En revanche, dans le cas d'une microflore complexe et diversifiée, comme dans le rumen, toutes les voies métaboliques sont *a priori* possibles. On peut alors supposer que les voies métaboliques et espèces présentes sont celles qui maximisent leur rendement thermodynamique. De ce fait, dans de nombreuses situations nutritionnelles les lois de la thermodynamique seraient plus déterminantes que les lois de la cinétique.

En conséquence, nous avons choisi de développer un nouveau modèle mécaniste intégrant les principes majeurs de la thermodynamique. Ce modèle pourrait constituer un « noyau générique » du fonctionnement ruminal et pourrait contribuer à mieux prédire l'orientation des fermentations en fonction des conditions physico-chimiques du milieu ou encore de la quantité et de la nature de l'énergie disponible. En complément de l'approche modélisatrice, forcément assez théorique, il est apparu important de mettre en place une expérimentation destinée à évaluer le bien fondé d'un certain nombre de principes de base pris en compte ou à intégrer dans les modèles. Plus précisément, l'objectif était de mesurer l'impact de caractéristiques thermodynamiques « clef » sur les fermentations ruminales. Les expérimentations ont été conduites à deux niveaux, en **fermenteurs continus à effluent double** et en **mini-fermenteurs**.

L'étude en fermenteurs continus a permis de considérer différents contextes de rations en jouant sur la teneur en paroi végétale (NDF) et sur la nature de la source amylacée (blé vs. maïs). Cette partie de l'étude avait pour objectif de se rapprocher de la

variabilité connue, liée aux régimes alimentaires. Les effets à moyen terme de ces rations sur les fermentations, la dégradation des constituants alimentaires et la synthèse de biomasse microbienne ont été examinés. Par ailleurs, trois fermenteurs ont fourni les inoculums nécessaires aux incubations de courte durée, en offrant l'avantage de pouvoir en caractériser le métabolisme avec une précision inconnue *in vivo*.

Les incubations en mini-fermenteurs ou batch avaient pour objectif d'évaluer les effets de la cinétique d'apport du glucose, du pH, du potentiel d'oxydo-réduction et de la composition en H_2 de la phase gazeuse sur l'orientation des fermentations au bout de 6 heures. Cette dernière étude doit permettre une modélisation empirique de ces effets par l'ajustement de modèles polynomiaux, elle vise également à fournir des paramètres destinés au développement d'un modèle mathématique basé sur les principes de thermodynamique. Cette approche expérimentale vient donc en complément de l'approche modélisatrice pour évaluer l'importance du contrôle thermodynamique des fermentations dans le rumen.

2.2. Matériel et Méthodes

2.2.1. Etude en fermenteurs continus à effluent double

Démarrage et maintenance des fermenteurs

Du contenu de rumen a été prélevé sur deux vaches Holstein tarées recevant une ration à base de pulpe de betterave, de paille et d'orge et mises à jeun pendant 20 heures. Le contenu a ensuite été filtré sur une maille de 1 mm, sous atmosphère de CO_2 à 39°C. Cinq fermenteurs continus à effluent double (Fig. 1) ont été inoculés avec environ 200 mL de filtrat et 300 mL de solution tampon ajusté à pH 8,5 par NaOH. Les procédures d'incubation et de maintenance des fermenteurs ont été décrites par Broudiscou et al. (1997).

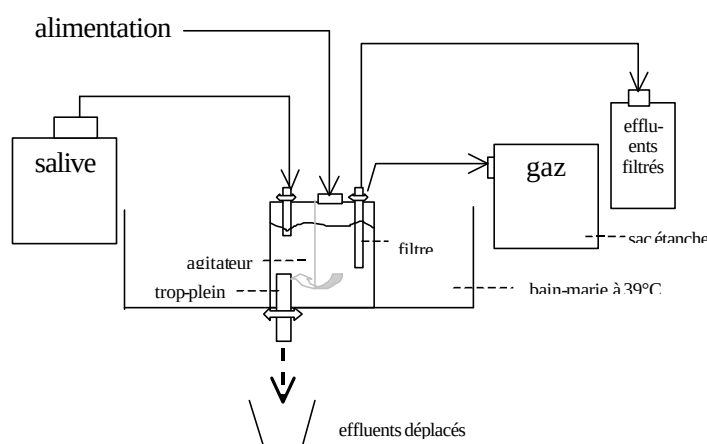


Fig. 1. Principe du fermenteur continu à effluent double.

Les fermenteurs sont maintenus à 39°C. Une solution de tampons phosphate et carbonate, salive artificielle ajustée à pH 10 par ajout de NaOH, est infusée en continu. Le milieu de fermentation est pompé de façon continue hors du fermenteur au travers d'un filtre de maille 150 µm. La fraction collectée est de fait appelée « effluent filtré » dans la littérature consacrée à cette famille de fermenteurs. Les flux de salive artificielle et d'effluents filtrés sont ajustés pour obtenir des taux de renouvellement des phases liquide et solide de 0,06 h⁻¹ et 0,03 h⁻¹ respectivement. Le milieu de culture complet est également soutiré toutes les 12 h sous atmosphère de CO₂ par l'intermédiaire d'un trop plein. La fraction ainsi collectée est couramment appelée « effluent déplacé ».

Rations expérimentales (Tableau 1)

Six rations expérimentales ont été utilisées. Elles diffèrent par:

- 1. la nature de la céréale:** blé ou maïs. Le blé se caractérise par un amidon rapidement dégradable (DT = 94 %) contrairement au maïs (DT = 60 %).
- 2. la teneur en NDF:** 50 (H), 37,5 (M) ou 25 (B) % de MS. Ces valeurs ont été choisies pour encadrer le seuil (30 - 40 % de NDF) en dessous duquel le pH ruminal chute fortement (Sauvant et al., 1999).

Les six rations apportent des quantités semblables de MO et d'azote (de 25,5 à 25,7 g/j de MO et de 0,51 à 0,59 g/j d'azote selon les rations) et sont distribuées toutes les 12 heures, à raison de 20 g par fermenteurs.

Tableau 1

Caractéristiques des rations expérimentales

	Blé NDF B	Blé NDF M	Blé NDF H	Maïs NDF B	Maïs NDF M	Maïs NDF B
Périodes	1 - 2	1	1 - 2	1 - 2	2	1 - 2
Composition, % MS						
Blé	63,90	37,65	12,33	-	-	-
Maïs	-	-	-	59,47	35,71	12,35
Foin de dactyle	-	34,50	67,77	-	30,80	61,08
Foin de luzerne	36,10	27,85	19,90	40,53	33,49	26,57
Composition chimique, % MS						
MO	95,59	94,06	92,59	94,16	93,19	92,23
MAT	13,00	13,13	13,25	11,67	12,44	13,20
NDF	25,56	38,03	50,06	26,21	37,89	49,37

Stratégie expérimentale

L'objectif de l'essai étant de quantifier les effets principaux des deux facteurs (en plus de l'effet de bloc représenté par la période expérimentale), leur interaction et l'effet quadratique de la teneur en NDF. Il était donc prévu de répartir au hasard les six rations expérimentales parmi les six fermenteurs au début des deux périodes expérimentales. Une panne survenue le premier jour d'essai a rendu indisponible un fermenteur pour la durée totale de l'essai. Aussi les rations expérimentales ont été attribuées aux fermenteurs conformément au Tableau 1. Les estimations des effets sont indépendantes (facteurs d'inflation égaux à 1) et les tests de signification des coefficients de régression conservent une puissance acceptable (ddl de l'erreur résiduelle de 4).

Mesures et prélèvements

Les quantités d'effluents collectés et de salives infusées dans les fermenteurs ont été mesurées chaque jour. Après une période d'adaptation de 6 jours, les effluents collectés pendant les trois jours suivants ont été mélangés puis échantillonnés pour la détermination de la teneur en matière sèche, des concentrations d'AGV, de lactate et d'ammoniac (ajout de 1 mL d'une solution aqueuse d'acide orthophosphorique à 25% (v/v) pour 4 mL d'échantillon filtré et stockage à -20°C jusqu'à analyse). Les aliments et les effluents totaux ont été échantillonnés pour lyophilisation et analyse en vue de déterminer la dégradabilité des principaux constituants de la ration (MS, MO, fraction pariétale et azote) et la synthèse de biomasse. Le volume et la composition des gaz de fermentation ont été mesurés en J7 et J8. En J8, le faciès fermentaire (pH, Ev, AGV, protozoaires) a été déterminé 2h30 et 10h30 après la distribution des rations.

2.2.2. Incubations en mini-fermenteurs

Les expériences en mini-fermenteurs ont été conduites pour quantifier l'influence de quatre facteurs physico-chimiques sur les fermentations: le mode d'apport du glucose, le pH initial du milieu, son potentiel d'oxydo-réduction initial et la proportion molaire d'hydrogène dans la phase gazeuse (Tableau 2). Le jour de fermentation a été inclus en tant que facteur de bloc. Les valeurs expérimentales ont été choisies de façon à couvrir la plage de variation la plus large possible en liaison avec les valeurs observées dans la littérature. Le pH a varié d'une unité pH, le potentiel a varié de 50 mV. Les quatre paramètres étudiés ont été combinés selon un plan factoriel fractionnaire de 24 expériences (Tableau 3) pour estimer leurs effets principaux, les effets quadratiques des facteurs quantitatifs, toutes les interactions d'ordre un et quelques interactions d'ordre deux faisant intervenir le mode

d'apport du glucose. Le modèle polynomial qui a guidé la recherche de la matrice d'expérience est présenté en section 2.2.4.

Tableau 2

Limites du domaine expérimental et codage des facteurs étudiés pour les incubations en mini-fermenteurs

Facteurs	Symbole	Niveaux	Valeurs codées			Méthode
			-1	0	1	
			Valeurs expérimentales			
<u>Facteurs contrôlés</u>						
Période	P	2	1	-	2	
Jour	J	2	1	-	2	
Inoculum	C	2	maï s		blé	
	N	3	25	37,5	50	
<u>Facteurs expérimentaux</u>						
Glucose	Gl	2	0,5	-	1	Apport du glucose en en une fois (àt = 0) ou en deux fois (àt = 0 et 3 h).
pH	pH	3	5,8	6,3	6,8	Ajustement du pH des inoculums filtrés et des tampons d'incubation.
Ev	Ev	3	H	M	B	Apport d'agent réducteur dans les tampons d'incubation.
Pression H ₂	H ₂	3	0	0,5 %	1 %	Contrôle de l'atmosphère gazeuse des tubes d'incubation.

Tableau 3

Matrice d'expérience des incubations en mini-fermenteurs

N°Exp	Jour	Glucose	pH	Ev	H ₂
1	7	0,5	5,8	H	0
4	7	0,5	6,3	M	0
5	7	1	6,3	M	0
7	7	1	5,8	B	0
8	7	0,5	6,8	B	0
10	7	0,5	6,3	H	0,5
11	7	1	6,8	H	0,5
14	7	0,5	6,8	M	0,5
17	7	0,5	5,8	H	1
22	7	0,5	5,8	B	1
23	7	1	5,8	B	1
24	7	0,5	6,8	B	1

N°Exp	Jour	Glucose	pH	Ev	H ₂
2	8	1	5,8	H	0
3	8	0,5	6,8	H	0
6	8	0,5	5,8	B	0
9	8	1	6,8	B	0
12	8	0,5	5,8	M	0,5
13	8	1	5,8	M	0,5
15	8	0,5	6,3	B	0,5
16	8	1	6,3	B	0,5
18	8	1	6,3	H	1
19	8	0,5	6,8	H	1
20	8	0,5	6,3	M	1
21	8	1	6,8	M	1

Trois inoculums étant mis en œuvre simultanément, un total de 72 incubations a été réalisé lors de deux jours consécutifs. Le schéma expérimental a été répété lors de la période suivante.

Les incubations ont été conduites en anaérobiose dans des tubes de culture de 72 mL (Fig. 2) inoculés avec les milieux de fermentation des cuves Blé NDF B, Blé NDF H et Maïs NDF B après la phase d'adaptation au régime. Les inoculums ont été traités comme suit. Les contenus de fermenteurs ont été récoltés 12h00 après le repas de façon à obtenir un inoculum riche en bactéries et pauvre en substrat fermentescible. Ils ont été filtrés sur une toile de nylon de 50 µm, sous atmosphère de CO₂ à 39°C. Pour chaque inoculum, trois aliquots de pH 6,8, 6,3 et 5,8 ont été préparés par ajout de solution de NaOH 5N ou H₂SO₄ 5N. Chaque tube de culture a été rempli de 12 mL d'inoculum, de 3 mL de solution tampon (ajustée pour obtenir des pH et Ev initiaux donnés) et de 1 mL de solution de glucose (0,5 mM ou 0,25 mM) comme seul substrat énergétique, conformément au plan d'expérience. Après avoir été brièvement mis sous atmosphère de CO₂ les tubes ont été soigneusement dégazés et remplis d'une phase gazeuse contenant une proportion donnée d'H₂ (0, 0,5 ou 1 %) et de CO₂. Les tubes ont été placés dans un bain-marie à 39°C et agités de façon continue.

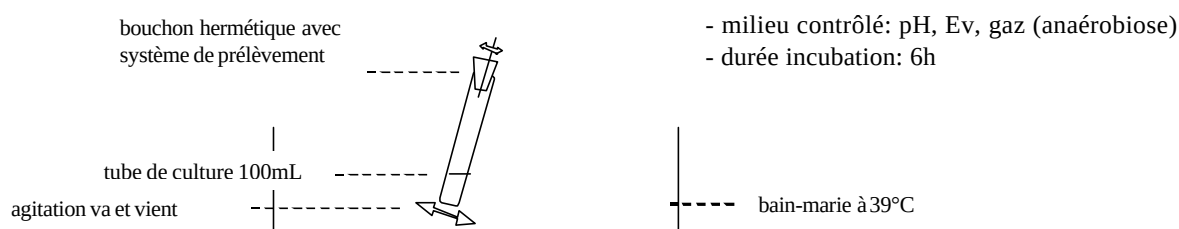


Fig. 2. Principe des incubations en mini-fermenteur.

Le contrôle indépendant du pH et du potentiel d'oxydo-réduction dans les incubations, nécessaire pour estimer correctement les effets de ces deux variables, a nécessité une pré-étude mettant en oeuvre les contenus de fermenteur à la fin de la phase d'adaptation de la première période. Nous avons choisi de contrôler le potentiel d'oxydo-réduction par ajout de cystéine-HCl comme agent réducteur. Il s'est avéré nécessaire d'établir la relation entre pH et Ev dans les trois inoculums, puis de quantifier la réponse de ces inoculums à l'ajout de cystéine et enfin de déterminer les concentrations de cystéine nécessaires dans les solutions tampons pour se conformer au plan d'expérience.

Une très forte relation a été observée entre pH et potentiel d'oxydo-réduction, avec une pente variable selon l'inoculum (- 45, - 50 et - 63 mV / unité pH pour Blé NDF B, Maïs NDF B et Blé NDF H respectivement). Le potentiel a ensuite été mesuré sur 50 mL d'inoculum filtré à pH 5,8 et 6,8 après différents apports de cystéine (0, 0,8 et 1,6 mg/mL). Les résultats indiquent une stabilité de la pente pour le pH. Par contre, les pentes sont différentes selon les inoculums, notamment selon le niveau de NDF. L'apport de cystéine (Cys, mg/mL) a eu un effet de type quadratique.

NDF B : Blé $Ev = 200 - 51,0 \text{ pH} - 160 \text{ Cys} + 55,7 \text{ Cys}^2$

 Maïs $Ev = 175 - 51,0 \text{ pH} - 160 \text{ Cys} + 55,7 \text{ Cys}^2$

NDF H: $Ev = 284 - 63,0 \text{ pH} - 87,7 \text{ Cys} + 30,4 \text{ Cys}^2$

Grâce à ces équations polynômiales, les 18 solutions tampons nécessaires à l'application du plan d'expérience ont été préparées par ajustement du pH et apport raisonné de cystéine. A chaque période, elles étaient préparées durant les jours précédant les incubations et conservées à 4°C jusqu'à utilisation.

Au bout de 3 h d'incubation, 1 mL de contenu a été prélevé et mélangé à 250 µL d'H₃PO₄ 25% (v/v) en vue de déterminer la composition en AGV, puis 1 mL de solution tampon (contenant ou non du glucose) a été ajouté dans chaque tube de culture. Au bout de 6 heures d'incubation, la pression dans les tubes a été immédiatement mesurée à l'aide d'un capteur de pression absolue (Druck LEO1). Les fermentations ont été stoppées par refroidissement des tubes à + 4°C, les gaz ont été analysés par CPG. Le pH du milieu de fermentation a été mesuré et 4 mL de milieu ont ensuite été mélangés à 1 mL d'H₃PO₄ 25% (v/v) pour l'analyse du lactate, de l'azote ammoniacal et des AGV.

2.2.3. Méthodes analytiques

Les concentrations d'AGV ont été déterminées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) des dérivés 2-chloroéthyle selon une méthode adaptée de Kristensen (2000). Le lactate a été analysé selon la méthode de Minaire et al. (1965), le NH₃-N a été

analysé selon la méthode de Davies et Taylor (1965). Les gaz (CH₄, CO₂, H₂, N₂, O₂) ont été analysés par CPG à l'aide d'un MicroGC (Chrompack). La teneur en bases nucléiques des inoculums a été utilisée comme marqueur microbien et a été déterminée par HPLC (Lassalas et al., 1993).

2.2.4. Calculs et analyses statistiques

Les productions nettes d'AGV, de lactate, d'ammoniac et de gaz ont été rapportées à la quantité de bases nucléiques présente dans les tubes de culture afin de les corriger des différences entre densités de biomasse microbienne dans les trois inoculums. En effet, les bases nucléiques sont couramment utilisés comme marqueurs de la biomasse microbienne dans les études sur la nutrition des ruminants et sont aisément dosées par HPLC après hydrolyse oxydative à l'acide perchlorique. Par ailleurs, le délai de 12 heures entre le dernier apport d'aliment dans les fermenteurs à double effluent et le prélèvement des inoculums garantit que les acides nucléiques d'origine alimentaire ont été en très grande partie dégradés avant ce prélèvement. Les productions d'AGV et de lactate sont donc exprimées en moles produites par mole de bases nucléiques. La teneur en bases nucléiques des bactéries libres a été supposée constante quelque soit l'inoculum (Legay-Carmier, 1989). La production des gaz a été estimée à partir de leurs proportions respectives et de la pression de la phase gazeuse dans les tubes de culture et en tenant compte de leurs solubilités dans le milieu d'incubation.

La quantité d'hexoses théoriquement fermentés (HF) a été calculée à l'aide de l'équation de Demeyer et van Nevel (1975) : $HF = \frac{C2 + C3 + Lac}{2} + C4 + C5$

C2, C3, C4, C5 et Lac représentent les quantités d'acétate, de propionate, de butyrate, de valérate et de lactate produites.

Les productions d'ATP et de NADH ont été estimées à partir des relations suivantes, établies à partir des voies de synthèse des AGV : $ATP = Lac + 2C2 + 2C3 + 3C4 + 2C5$

$NADH = 2C2 - C3 + 2C4 - C5$

Les résultats ont été analysés par régression linéaire avec Minitab 12.2.

Les données acquises en fermenteur à double effluent ont été ajustées au modèle polynomial suivant :

$$Y = b_0 + b_1.C + b_2.N + b_3.P + b_{22}.N^2 + b_{12}.C.N$$

C, N et P représentent les variables codées pour les facteurs « céréale », « teneur en NDF » et « période » respectivement.

Les données acquises lors des fermentations de 6 h en tubes de culture ont été ajustées au modèle polynomial suivant :

$$Y = b_0 + \sum_i b_i \cdot X_i + \sum_i b_{ii} \cdot X_i^2 + \sum_{ij} b_{ij} \cdot X_i \cdot X_j + b_4 \cdot G + b_5 \cdot J + b_6 \cdot P + \sum_i b_{i4} \cdot X_i \cdot G + \sum_i b_{ii4} \cdot X_i^2 \cdot G$$

Les variables codées X_i ($i \in [1,3]$) correspondent aux trois facteurs quantitatifs étudiés, pH, Ev et H_2 (Tableau 2) et varient de -1 à +1. La variable G correspond au mode d'apport du glucose et rend compte de son influence directe ou en interaction d'ordre un ou deux avec les trois autres facteurs expérimentaux. Le jour de fermentation (J) et la période (P) ont été inclus comme facteurs de bloc. Le modèle permet de tester les effets principaux, les effets quadratiques et les interactions entre facteurs. Les coefficients du modèle ont été estimés et comparés à zéro par un test de Student. Dans les tableaux de résultats présentés, le niveau de signification pour l'hypothèse nulle a été indiqué avec comme convention: a: $P < 0,001$, b: $P < 0,01$, c: $P < 0,05$, d: $P < 0,1$. Une étude des résiduelles des ajustements a permis de tester leur normalité et de rechercher des causes de variabilité.

2.3. Résultats et discussion

2.3.1. Stœchiométrie des fermentations dans les fermenteurs à effluent double

a: relations générales entre variables

L'étude des relations entre les différentes variables a permis de dégager certaines lois générales, indépendantes de la ration apportée. Une corrélation positive a été mise en évidence entre la production d'hexoses fermentés, HF, exprimée en moles, et la production de CO_2 , également exprimée en moles ($n = 10$, $R^2 = 0,58$, $P < 0,011$). Ces deux paramètres témoignent en effet de l'intensité des fermentations. Une relation positive, moins évidente à expliquer, a été établie entre les productions de C2 et de C6 ($n = 10$, $R^2 = 0,42$, $P < 0,040$).

Peu de relations générales apparaissent significatives car deux groupes de réponse se distinguent surtout en fonction de la teneur en NDF des rations (NDF H vs. NDF M ou B).

b: influence de la ration

Le tableau 4 présente, pour les 10 observations indépendantes, les modèles d'ajustement des variables d'intérêt en fonction de la teneur en NDF du régime (N) et de la nature de la céréale (C).

Tableau 4

Modèles d'ajustement de la fermentation des hexoses (mmoles/j) et des productions relatives (moles/ 100 moles de HF) d'AGV et de gaz

	HF	C2	C3	C4	C5 + C6	CH ₄	H ₂
Constante	82,7 ^a	80,8 ^a	53,0 ^a	17,6 ^b	15,5 ^a	0,9	28,1
C	1,8	-2,5 ^d	-2,1	0,7	1,6 ^c	-1,6 ^b	0,5
N	-8,6 ^c	22,6 ^a	4,9 ^c	-9,2 ^b	-4,6 ^b	8,9 ^a	-18,3
N ²	-0,4	8,0 ^c	-23,3 ^a	5,2	2,5	8 ^a	-9,7
C.N	5,2 ^d	0,7	2,5	-0,6	-1	-1,9 ^b	5,6
R ²	0,87	0,99	0,96	0,93	0,88	0,99	0,53
etr	5,8	2,9	3,3	3,7	1,7	0,9	26,2

La quantité de HF a varié de 60,6 à 95,2 mmoles/j et tend, de façon logique, à augmenter ($R^2 = 0,63$) lorsque la teneur en NDF diminue. Dans ce cas, le régime à base de maïs a entraîné des fermentations plus actives que le régime à base de blé, ce qui peut sembler surprenant.

La production de C2 diminue lorsque la teneur en NDF diminue, alors que les productions de C4 et de C5 augmentent. Le nombre moyen de C dans les chaînes carbonées a été de 2,65 (NDF H), 2,85 (NDF M) et de 3,14 (NDF B). Ce résultat est logique. La production de C3 a été maximale pour la teneur en NDF moyenne (effet curvilinéaire). Lorsque l'énergie est largement disponible, il y a donc une substitution des fermentations propioniques au profit de processus aboutissant à des chaînes d'AGV plus longues. Ce type de phénomène a déjà été observé *in vivo*, en particulier avec des rations riches en glucides solubles. Le type de céréale modifie également les profils d'AGV, exprimés en moles/ 100 moles de HF. Le maïs favorise la production d'acétate et de propionate par rapport au blé (Fig. 3).

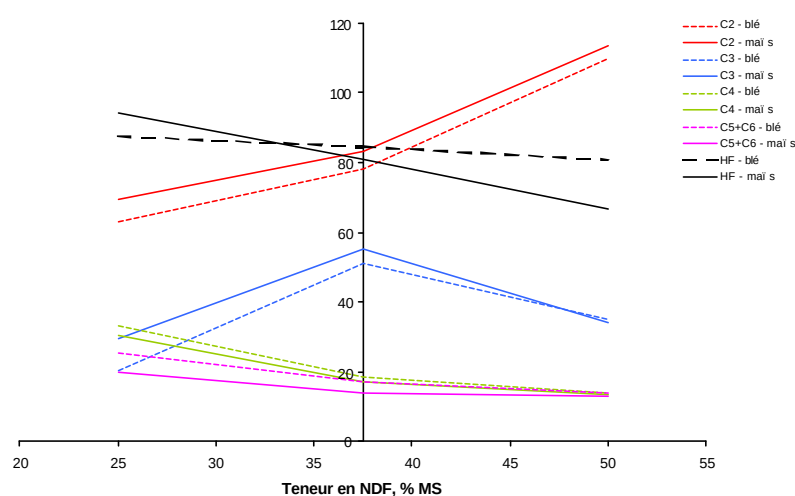


Fig. 3. Modèles d'ajustement de la production d'hexoses fermentés (mmoles/j) et des productions relatives d'acides gras volatils (moles/100 moles d'hexoses fermentés).

Les productions de gaz ont été très discriminantes puisque les rations à faible teneur en NDF ont entraîné une inhibition de la méthanogenèse ($\text{CH}_4 \approx 0,1$ moles/100 moles de HF) et des productions de H_2 très fortes. L'inverse a été observé pour les rations à forte teneur en NDF. Il y a donc une substitution très nette entre les méthanogènes et les producteurs d' H_2 entre les fermenteurs (Fig. 4).

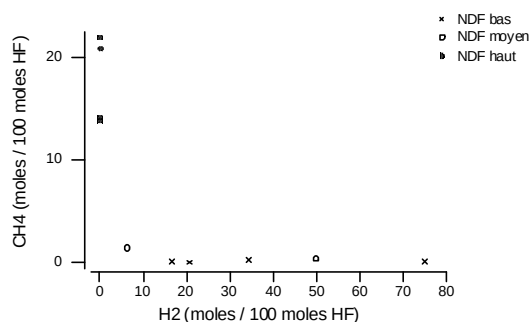


Fig. 4.: Effet de substitution entre méthane et hydrogène.

Les résiduelles des modèles présentés dans le tableau 4 suivent approximativement des lois normales et révèlent certaines corrélations non prises en compte par le dispositif expérimental. La part de variance non expliquée pour H_2 était positivement liée à celle de C_4 et négativement liée à celle de C_5 . Ceci est peut-être à mettre en relation avec une formation de H_2 lors de la production de C_4 et au contraire, un phénomène de piégeage de H_2 lors de la production de C_5 .

2.3.2. Stœchiométrie des fermentations en mini-fermenteurs

a: caractéristiques et relations générales observées

Discussion préalable sur le mode d'expression des variables

Les variables mesurées peuvent être exprimées en différentes unités: production brute (μmoles), production rapportée à la quantité de bases nucléiques dans l'inoculum (moles/mole de nucléobases) et enfin production relative par rapport à la quantité d'hexoses fermentés (moles/ 100 moles de HF). Ces différents modes peuvent notablement influencer l'interprétation qu'on peut faire des résultats. Des différences significatives et logiques ont été observées entre les quantités de bases nucléiques présentes dans les inoculums provenant des rations NDF H (0,75 - 0,99 $\mu\text{moles/ flacon}$) et NDF B (1,62 - 2,68 $\mu\text{moles/ flacon}$). Cette différence a entraîné de fortes discriminations entre ces types d'inoculum lorsque les productions d'AGV et de gaz étaient exprimées en moles/ mole de nucléobases. Cette discrimination était moins marquée lorsque les productions étaient exprimées en moles/ 100 moles de HF. La figure 5 illustre ces aspects dans le cas de la production de propionate.

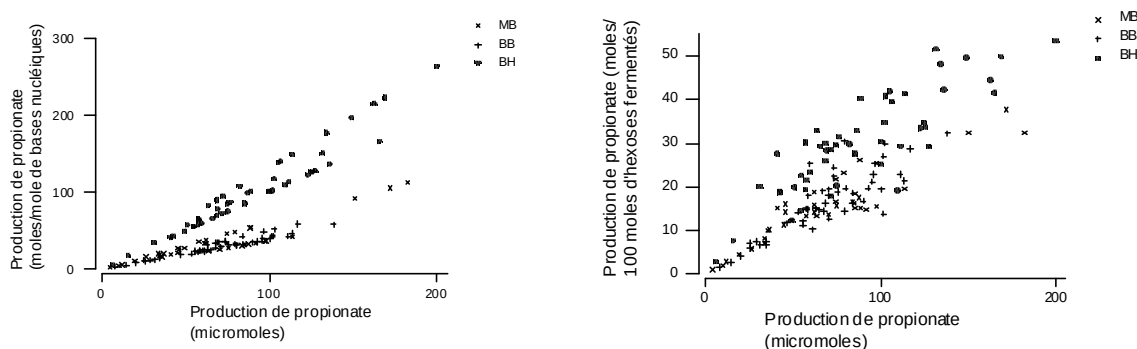


Fig. 5. Influence du mode d'expression de la production de propionate.

Caractéristiques et relations générales dans l'inoculum initial

Les inoculums ont été analysés pour les concentrations d'AGV et de bases nucléiques au temps zéro. Les pH et potentiels d'oxydo-réduction des inoculums (pH_i et Ev_i), après ajustement à un pH et à un potentiel donné, ont également été mesurés. Ces mesures permettent notamment de valider notre méthode de découplage entre pH et Ev . On constate cependant une certaine distortion de notre plan expérimental. En effet, les valeurs du potentiel d'oxydo-réduction de l'inoculum Maïs NDF B ont été beaucoup plus faibles en période 1 ($-352 < Ev_i < -212$ mv) par rapport à la période 2 ($-185 < Ev_i < -70$ mv). Par ailleurs, on observe une relation négative (inter-inoculum) entre le potentiel d'oxydo-réduction initial ainsi établi et la concentration de C3 du milieu. Cette relation, plus évidente pour les régimes bas en NDF, suggère que l'augmentation de la concentration de C3 conduit à la baisse du potentiel d'oxydo-réduction, ou réciproquement (Fig. 6). Cette relation est peut-être à relier avec l'utilisation d'hydrogène moléculaire lors de la formation de propionate. Une relation opposée lie C4 au potentiel d'oxydo-réduction mais cette dernière relation est valable uniquement pour les rations NDF B.

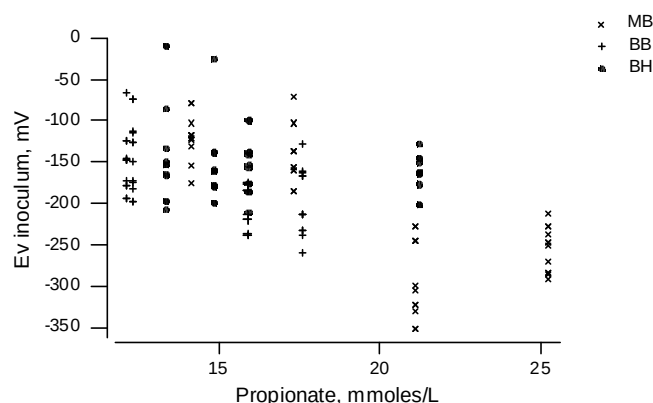


Fig. 6. Relation entre la concentration de propionate et le potentiel d'oxydo-réduction dans les inoculums au temps zéro.

En outre, une autre relation inter-inoculum relie positivement la teneur en bases nucléiques et les concentrations de butyrate et de valérate. Il semble donc qu'une augmentation de la densité microbienne conduit à des concentrations plus élevées d'AGV longs. La densité microbienne étant fortement et négativement liée à la teneur en NDF, cette relation peut aussi exprimer la sélection d'une flore libre produisant préférentiellement des AGV longs en condition NDF B.

Caractéristiques et relations générales au bout de 6 heures de fermentation

Le glucose a été apporté en quantité importante dans les inoculum dans le but de réduire les fermentations de substrats endogènes. Sur la base du calcul de HF, en moyenne environ la moitié du glucose apporté a échappé aux fermentations. Le dosage du glucose résiduel à 6h est en cours pour permettre d'évaluer l'utilisation de substrats endogènes.

Relations inter-inoculum

Des corrélations positives ont été observées entre la quantité de HF et la production de CO₂ ($n = 144$, $R^2 = 0,18$, $P < 0,001$) et entre les productions brutes, exprimées en μ moles par tube, de C2 et C6 ($n = 144$, $R^2 = 0,72$, $P < 0,001$). Ces relations avaient déjà été observées dans les fermenteurs continus, elles se sont donc prolongées au cours des 6h de batch. D'autres relations positives sont apparues, notamment entre C4 et C5 ($n = 144$, $R^2 = 0,71$, $P < 0,001$) et entre C3 et lactate ($n = 144$, $R^2 = 0,04$, $P < 0,02$). Cette dernière a été mise en évidence uniquement pour les rations NDF B. Enfin, la relation entre C3 et C4 était discriminante: en effet, elle est positive pour les rations NDF H et négative pour les rations NDF B.

Le nombre moyen de carbone (C) dans les chaînes carbonées formées a tendance à augmenter lorsque HF, exprimé en μ moles, augmente. Cette relation, générée par les régimes, semble cohérente puisqu'en condition excédentaire en énergie, le nombre moyen de C dans les chaînes carbonées formées augmente (Sauvant et al., 1995b). Par contre, la relation avec HF, exprimée en moles/ mole de nucléobases, est inverse, ce qui découle des teneurs en nucléobases bien plus faibles pour les régimes NDF H (Fig. 7).

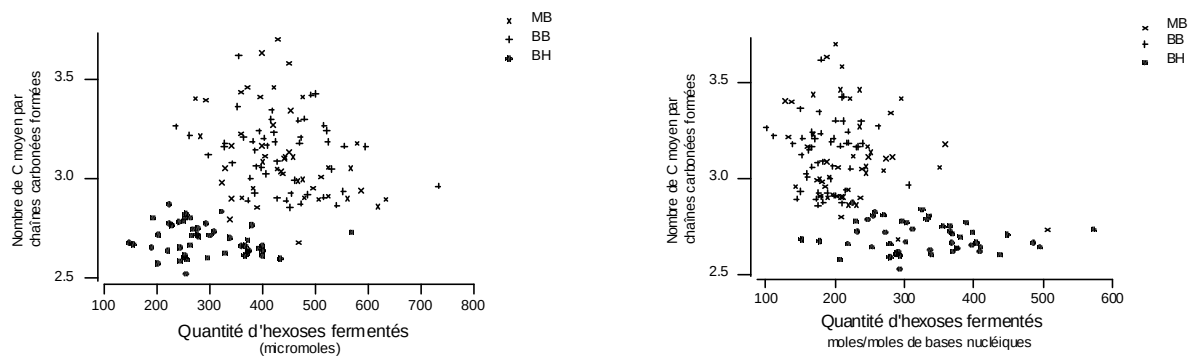


Fig. 7. Relation entre la quantité d'hexoses fermentés et le nombre moyen de carbone dans les chaînes carbonées formées.

Par ailleurs, le nombre moyen de C dans les chaînes carbonées formées a eu tendance à augmenter simultanément à la production de H_2 , donc avec des productions faibles de CH_4 .

Influence du type d'inoculum

Dans cette étude, on retrouve les effets de la teneur en NDF de la ration et du type de céréale observés précédemment en fermenteurs. Une teneur en NDF élevée joue notamment sur la quantité d'hexoses fermentés (- HF), le profil fermentaire des AGV (+ C2, + C3, - C4, - C5) et les gaz produits (+ CH_4 , - H_2 , + CO_2).

Hexoses fermentés

La quantité d'hexoses fermentés a varié fortement entre 100 et 572 μ moles. Par contre, la production de HF, ramenée à la teneur en base nucléique, a été largement supérieure dans l'inoculum Blé NDF H (328 ± 85 moles/ mole de nucléobases), par rapport aux inoculums Maïs NDF B (224 ± 55 moles/ mole de nucléobases) et Blé NDF B (188 ± 37 moles/ mole de nucléobases).

AGV produits

Le nombre moyen de C dans les chaînes carbonées était de $2,70 \pm 0,08$ pour Blé NDF H, plus faible que pour Maïs NDF B et Blé NDF B ($3,12 \pm 0,21$). Ce résultat est donc comparable aux résultats obtenus en fermenteurs. Le type de céréale modifie aussi notamment le profil des AGV formés. L'inoculum Blé NDF B a produit en proportion plus de propionate ($16,5 \pm 7,4$ %) et moins d'acétate ($60,9 \pm 14,0$ %) que l'inoculum Maïs NDF B ($11,0 \pm 11,6$ % et $69,4 \pm 16,5$ % respectivement). Le rapport C2/C3 est donc plus faible avec des aliments à amidon rapide (Sauvant et al., 1994).

Gaz produits

Les productions de gaz, exprimées en moles/mole de nucléobases, étaient assez similaires aux observations en fermenteurs. La production de CO_2 était supérieure pour Blé NDF H (347 ± 318 moles/ mole de nucléobases) comparativement aux inoculums provenant des

rations à faible teneur en NDF (219 ± 112 moles/ mole de nucléobases). La production de méthane est aussi restée quasi nulle pour ces deux inoculums. La production de H_2 était nulle ou très faible dans le cas de Blé NDF H mais pouvait être non négligeable dans les deux autres cas: $3,9 \pm 5,3$ moles/ mole de nucléobases pour Blé NDF B et $7,0 \pm 7,8$ moles/ mole de nucléobases pour Maïs NDF B.

b: influence des facteurs expérimentaux sur les réponses après 6 heures **- relations inter-inoculum**

Le potentiel d'oxydo-réduction initial de l'inoculum a eu un effet sur de nombreux paramètres caractérisant les productions d'AGV. En conditions de Ev_i faible (donc favorables), le nombre moyen de C dans les chaînes carbonées tend à augmenter (Fig. 8), cette augmentation est liée à l'augmentation de la production de C5 et à la diminution de la production de C3. Le potentiel a donc été un paramètre influant, indépendamment du pH, sur le court-terme. Son action porte principalement sur les AGV longs. La production de H_2 a été négativement corrélée ($n = 144$, $R^2 = 0,36$, $P < 0,001$) au potentiel d'oxydo-réduction initial de l'inoculum. Cette relation concerne surtout les régimes NDF B. En conditions de Ev_i faible, la production de H_2 augmente, ce qui est cohérent avec les lois de la thermodynamique appliquées à l'équilibre H^+ / H_2 .

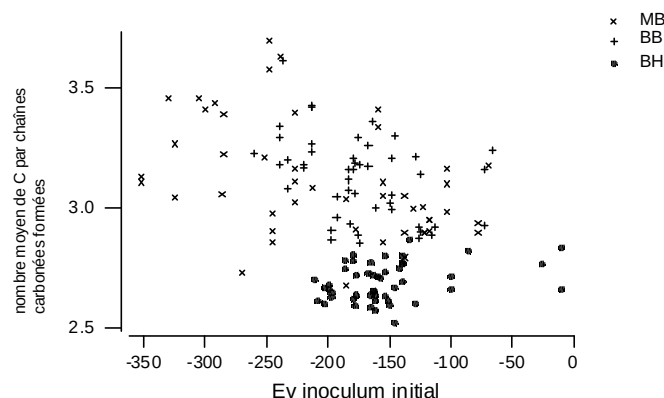


Fig. 8. Influence du potentiel d'oxydo-réduction sur le nombre moyen de C dans les chaînes carbonées formées.

Les quantités d'azote ammoniacal observées au bout de 6h étaient étroitement liées au pH et au potentiel d'oxydo-réduction initial de l'inoculum. Ces relations traduisent en fait le supplément d'azote apporté par la cystéine, surtout en conditions pH et Ev bas, alors que l'azote n'était pas un facteur limitant pour les incubations. Globalement, la teneur en NH_3 augmente lorsque le pH diminue ou que le potentiel est bas. On pourra néanmoins s'interroger sur la possibilité d'utiliser un autre agent réducteur de nature inorganique.

- modèles d'ajustement intra-inoculum

Les effets des quatre facteurs expérimentaux (G, pH, E, H) ont été étudiés. Les effets linéaires ont été largement prédominants. Les modèles avec les interactions et les effets quadratiques, parfois significatifs, ne sont donc pas présentés par soucis de simplification. Les résultats indiquent que les modèles permettent de prédire les productions d'AGV et de gaz avec des R^2 variant de 0,3 à 0,8. Dans le cas des productions d'acétate, les prédictions sont beaucoup moins satisfaisantes et l'écart-type résiduel des modèles varie entre 29,5 et 86,6 μ moles. De fortes erreurs de mesures peuvent être observées (jusqu'à 10 % dans le cas de C2) par la méthode utilisant la CPG. Des alternatives sont donc à étudier pour pallier ce problème.

Inoculum Blé NDF H

Les résultats pour l'inoculum Blé NDF H indiquent que HF, exprimé en moles/ mole de nucléobases, a été influencé par le mode d'apport de glucose et le pH de l'inoculum (Tableau 5). Un apport fractionné en deux fois et un pH faible ont diminué les fermentations, et également les productions relatives d'ATP et de NADH. Un pH faible entraîne une baisse des productions de C2, C3 et C4 (en moles/ mole de nucléobases) par rapport aux AGV mineurs (C6) et au lactate. Un pH faible diminue également la production de CH_4 et de CO_2 . La production de H_2 a été largement dépendante de l'apport initial de H_2 dans l'inoculum. Cet apport a également entraîné une augmentation de la production de NADH.

Les productions relatives d'AGV (Tableau 6), exprimées en moles/100 moles d'hexoses fermentés, sont influencées par l'enrichissement du milieu en H_2 (+ C2, - C3, - C4) et par une baisse du pH (- C3, + C4).

Tableau 5

Quantités produites en 6h (moles/ mole de nucléobases) pour l'inoculum Blé NDF H

	HF	C2	C3	C4	C5	Lactate	NH_3	H_2	CH_4	CO_2
Constante	335,32 ^a	352,11 ^a	105,57 ^a	23,20 ^a	1,14 ^c	71,83 ^a	828,5 ^a	0,09	25,97 ^a	352,73 ^a
GI	26,53 ^d	34,05 ^c	5,99	1,47	0,07	2,01	-15,9	0,20	1,13	38,38
pH	38,89 ^a	32,33 ^c	37,30 ^a	5,68 ^a	0,76	-0,65	-138,4 ^a	0,19	10,65 ^a	182,48 ^a
Ev	-4,68	-0,54	-6,37	-0,92	0,15	-0,12	-90,8 ^c	0,09	-0,16	1,88
H_2	15,61	28,61 ^d	-2,46	-1,39	-0,35	1,57	-30,5	1,10 ^d	-0,08	104,86 ^d
R^2	0,49	0,33	0,77	0,69	0,32	0,18	0,62	0,26	0,70	0,67
etr	64,97	86,60	27,16	7,50	2,94	8,72	247,2	2,01	7,81	196,4

Tableau 6

Quantités produites en moles pour 100 moles d'hexoses fermentés (inoculum Blé NDF H)

	C2	C3	C4	C5	Lactate	ATP	NADH
Constante	104,91 ^a	30,65 ^a	6,66 ^a	0,24	22,56 ^a	314,15 ^a	192,27 ^a
GI	1,56	-0,29	0,04	0,05	-1,23 ^c	1,53	3,44
pH	-2,25	7,61 ^a	0,87 ^c	0,20	-2,77 ^a	10,96 ^a	-10,56 ^b
Ev	1,11	-1,38	-0,12	0,07	0,41	-0,36	3,30
H_2	3,81 ^c	-2,28 ^c	-0,70 ^c	-0,13	-0,21	0,46	8,63 ^c
R^2	0,45	0,72	0,62	0,28	0,50	0,54	0,55
etr	8,94	6,38	1,91	1,00	4,02	11,75	19,33

Inoculum Blé NDF B et Maïs NDF B

Les résultats pour les deux inoculum basés sur le régime NDF B sont assez semblables (Tableaux 7 à 10). On observe principalement les effets du pH et du potentiel d'oxydo-réduction. Un pH faible ou un potentiel redox élevé diminue la production de C4 et de C5 et augmente celle de C3. La production de C2 n'était pas influencée par ces deux facteurs.

Tableau 7

Quantités produites en 6h (moles/ mole de nucléobases) pour l'inoculum Blé NDF B

	HF	C2	C3	C4	C5	Lactate	NH ₃	H ₂	CO ₂
Constante	187,89 ^a	114,75 ^a	30,13 ^a	30,15 ^a	32,56 ^a	68,06 ^a	384,3 ^a	4,20 ^a	213,23 ^a
GI	-6,28	-5,87	2,91 ^d	-2,04 ^d	-2,40 ^c	0,63	-12,6	0,42	22,94 ^c
pH	20,41 ^a	5,74	-4,21 ^c	13,16 ^a	9,27 ^a	-5,21 ^a	-95,4 ^a	3,80 ^a	56,21 ^a
Ev	-3,32	-4,17	4,35 ^c	-4,88 ^a	-4,52 ^a	11,67 ^a	56,2 ^a	-1,36 ^c	-1,07
H ₂	-13,35 ^b	-13,15 ^c	-3,17 ^d	-2,25	-1,28	-0,85	3,6	0,34	41,79 ^b
R ²	0,53	0,47	0,38	0,75	0,78	0,72	0,69	0,69	0,49
etr	27,22	29,54	10,98	8,10	6,80	8,02	75,6	3,13	71,53

Tableau 8

Quantités produites en moles pour 100 moles d'hexoses fermentés (inoculum Blé NDF B)

	C2	C3	C4	C5	Lactate	ATP	NADH
Constante	60,49 ^a	16,62 ^a	15,45 ^a	17,18 ^a	37,58 ^a	272,48 ^a	118,08 ^a
GI	-1,50	2,27 ^b	-0,63	-0,64	1,78 ^c	0,15	-5,88 ^c
pH	-2,72	-4,10 ^a	5,40 ^a	2,92 ^a	-7,29 ^a	1,10	6,53 ^d
Ev	-1,20	2,40 ^b	-2,14 ^a	-1,89 ^a	6,33 ^a	-1,48	-7,20 ^c
H ₂	-1,98	-0,73	-0,07	0,38	1,83 ^d	-3,02 ^d	-3,75
R ²	0,56	0,65	0,74	0,75	0,75	0,47	0,73
etr	10,01	4,71	3,30	3,04	5,52	10,55	19,02

Tableau 9

Quantités produites en 6h (moles/ mole de nucléobases) pour l'inoculum Maïs NDF B

	HF	C2	C3	C4	C5	Lactate	NH ₃	H ₂	CO ₂
Constante	224,18 ^a	157,78 ^a	24,77 ^a	41,75 ^a	39,74 ^a	59,57 ^a	412,2 ^a	7,13 ^a	237,90 ^a
GI	-6,40	-9,48	2,57	-1,10	-2,22	4,05 ^d	-10,8	-0,68	-1,83
pH	18,54 ^d	8,99	-6,29 ^d	11,20 ^a	10,49 ^a	-9,21 ^a	-139,8 ^a	5,84 ^a	74,72 ^a
Ev	-10,74	4,58	4,86	-14,05 ^a	-10,32 ^a	16,59 ^a	69,1 ^a	-1,24 ^c	-13,04
H ₂	3,96	16,73	-0,47	-3,40	-2,02	-1,80	-2,3	-1,05 ^d	53,32 ^a
R ²	0,28	0,06	0,57	0,60	0,77	0,82	0,79	0,82	0,58
etr	58,99	85,74	20,63	14,55	10,70	15,34	83,5	3,52	89,39

Tableau 10

Quantités produites en moles pour 100 moles d'hexoses fermentés (inoculum Maïs NDF B)

	C2	C3	C4	C5	Lactate	ATP	NADH
Constante	69,32 ^a	10,95 ^a	18,56 ^a	17,91 ^a	27,24 ^a	279,30 ^a	146,90 ^a
GI	-0,19	1,08	-0,22	-1,04	2,17 ^c	1,19	-0,88
pH	-1,04	-4,48 ^b	3,74 ^a	3,25 ^a	-7,18 ^a	-0,52	6,63
Ev	4,00	2,82 ^c	-5,19 ^a	-3,46 ^a	9,22 ^a	0,36	-1,74
H ₂	3,75	0,78	-1,47	-1,18	-0,19	2,11	4,97
R ²	0,11	0,61	0,58	0,73	0,82	0,36	0,14
etr	16,64	7,79	5,25	5,07	6,44	12,62	31,95

- étude de la résiduelle des modèles

Les résiduelles des modèles suivent des lois normales. Certains facteurs, notamment les paramètres initiaux, ont été testés afin de mieux expliciter les variations des résiduelles. Les concentrations initiales d'AGV ont parfois été corrélées positivement avec les valeurs de production au bout de 6 heures, c'est le cas notamment pour le C4 et le C5. Par contre, on observe une relation négative entre la concentration initiale de C3 et la production de C3 qui a suivi. On peut imaginer un phénomène de rétro-inhibition de la production de propionate lorsque les valeurs deviennent élevées.

- bilan des effets liés aux facteurs expérimentaux

1. Le mode d'apport du glucose ne semble pas avoir joué un rôle important dans fermentations. HF ne dépend pas du mode d'apport de glucose dans les cas des régimes avec de faibles teneurs en NDF. Dans le cas contraire, HF augmente lorsque l'apport est effectué en une fois (au lieu de deux). Cet effet est probablement à relier avec la durée de présence du glucose qui est plus importante dans ce cas là. Néanmoins, l'excès de glucose apporté ne permettait pas d'examiner ce facteur de façon optimale. Des conditions expérimentales plus limitantes en substrat, avec des quantités de glucose apporté plus faibles, devront être testées.

2. L'effet pH a été prédominant et était relativement stable selon le type d'inoculum. Un pH faible a entraîné une diminution de la quantité d'hexoses fermentés, des productions d'AGV, notamment de C4 et de C5, et des productions de CH₄ (pour Blé NDF H) et de CO₂. Les effets du pH sur C2 et C3 ont été différents selon la teneur en NDF. Par contre, le lactate était toujours beaucoup plus important en condition de pH faible. Calsamiglia et al. (2002) ont conduit une expérimentation en fermenteur (ration à 36,6 % de NDF) montrant qu'un pH faible favorisait la proportion de propionate aux dépens de l'acétate. Nos résultats indiquent

effectivement une baisse de la proportion d'acétate; par contre, l'augmentation de la proportion de propionate a été observée uniquement sur les inoculums avec de faibles teneurs en NDF.

Quelques effets quadratiques du pH sont apparus significatifs (ex. effet sur la production de C2 et C3 dans l'inoculum Blé NDF B), les effets linéaires ont été largement majoritaires. Peu d'effets d'interaction entre pH et Ev (ex. production de C4 dans l'inoculum Blé NDF H) ont pu être mis en évidence.

3. Le potentiel d'oxydo-réduction initial de l'inoculum a joué de façon significative sur les productions d'AGV. Un potentiel faible favorise la production d'AGV longs (par ex. C5) par rapport aux AGV courts et notamment à C3.

4. L'effet de H_2 n'a pas pu être représentatif de conditions extrêmes. En effet, nos conditions expérimentales (H_2 variant de 0 à 1 %) n'ont pas représenté le domaine de variation observé en fermenteur (0 à 15 %). En mini-fermenteurs, la formation de H_2 , en moles/ mole de nucléobases, était maximale avec des valeurs de potentiels d'oxydo-réduction initiaux faibles. Cette relation était prévisible par les lois thermodynamiques. Par contre, la formation de H_2 tend à augmenter avec des pH élevés, au temps zéro ($R^2 = 0,03$, $P < 0,025$) ou au temps 6h ($R^2 = 0,14$, $P < 0,001$); cette relation était un peu moins attendue.

3. Conclusion partielle

L'application des lois de la thermodynamique au métabolisme ruminal a été abordée par deux approches complémentaires. Un modèle mécaniste, basé sur les variations d'énergie libre, a d'abord été développé. Ce modèle a permis de représenter de façon assez satisfaisante certaines régulations observées; néanmoins, il comporte aussi certaines limites. Cette approche a donc été complétée par une étude expérimentale portant sur l'influence de paramètres clés: pH, Ev, H_2 sur les fermentations. Le dispositif expérimental a été conçu de façon à observer le plus directement possible l'application des lois de la thermodynamique. Les fermentations ont donc été basées sur l'apport d'un substrat simple, le glucose. Le choix du glucose plutôt qu'un substrat de type cellulose/amidon ou cellobiose/maltose a permis de se soustraire au maximum des lois de la cinétique. Par ailleurs, l'étude a été basée sur trois inoculums correspondant à trois situations très typées. Les effets communs pouvant être dégagés de cette façon se soustraient alors des lois de la biologie des populations. L'étude à moyen terme a mis en évidence un contrôle des fermentations faisant intervenir les lois de la biologie des populations. Les populations méthanogènes pouvant être fortement inhibées par le type de ration apportée. Ensuite, l'étude en mini-fermenteurs a permis d'étudier les

régulations de court terme qui sont alors à relier avec les lois thermodynamiques. Ainsi, les lois de réponse au pH, au potentiel d'oxydo-réduction et à la pression partielle de H_2 ont pu être établies. Des lois générales (ex. influence inter-inoculum de Ev_i sur la production de H_2 et de C5) ou plus spécifiques (ex. effet variable du pH sur la production de C3 selon les inoculums) ont été mises en évidence. Le pH et le potentiel d'oxydo-réduction semblent notamment avoir joué un rôle important. Il serait intéressant d'explorer plus en détail ces régulations en variant les quantités de glucose apporté pour se situer dans des situations énergétiques variées.

Discussion générale

Ce travail s'inscrit dans le contexte scientifique actuel qui se focalise autant sur une meilleure gestion des résultats et des connaissances établis que sur l'augmentation de leur volume. En effet, il convient d'explicitier davantage la nature et les relations entre les informations existantes. L'ingénierie des connaissances (Charlet et al., 2001) propose ainsi des concepts, méthodes et techniques permettant de modéliser, de formaliser et d'acquérir des connaissances. Les méthodes utilisées au cours de ce travail de thèse s'inscrivent tout à fait dans une telle démarche. L'analyse quantitative de bases de données de la littérature permet d'aborder, sans nécessité d'emblée de nouvelles expérimentations, l'étude des lois de réponses aux régimes. Des causes multiples entraînent des effets multiples pas toujours évidents à appréhender... La modélisation permet d'examiner les interrelations entre les différents composants d'un système et constitue donc le principal outil d'intégration des connaissances.

1. Comparaison des modèles du rumen

All models are wrong some are useful (Box, 1979)

Depuis 1970, les travaux portant sur la modélisation du rumen se sont multipliés et différents modèles mécanistes ont été publiés (France et al., 1982; Baldwin et al., 1987; Danfaer, 1990; Russell et al., 1992; Dijkstra, 1993; Lescoat et Sauvant, 1995...). Les premiers modèles du rumen ont surtout eu pour objectif de mettre en cohérence les connaissances accumulées au cours des nombreuses expérimentations des décennies antérieures. Ce n'est que très récemment que la prédiction des réponses de cet organe aux variations du régime a été affichée comme objectif. Les modèles doivent permettre entre autres d'estimer les flux des produits terminaux de la digestion dans le rumen pour pouvoir « nourrir » des modèles métaboliques, qui prédisent l'utilisation de ces produits (Gill et al., 1984; DiMarco et al., 1989; Buchanan-Smith et al., 1990; Danfaer, 1990...). Ces modèles présentent *a priori* un enjeu pratique considérable.

Pour aller plus en avant dans la modélisation du rumen et pour éviter de « refaire l'existant », une phase de **validation comparée** des principaux modèles actuels a semblé nécessaire. La validation comparée des modèles constitue une étape indispensable dès que trois à cinq modèles sont disponibles, elle fait partie intégrante de la démarche scientifique de modélisation. La validation externe consiste à confronter les résultats simulés avec des données réelles. Ce type de validation est souvent resté très limité car les expériences spécifiques seraient coûteuses à mettre en oeuvre, en outre les bases de données réalisées sont souvent peu compatibles avec cette démarche. Notre approche associant modélisation mécaniste et empirique de façon complémentaire a donc été relativement novatrice. La

démarche adoptée s'appuie sur le développement et l'utilisation de bases de données. Le grand nombre d'observations prises en compte a rendu le travail parfois fastidieux, par contre cela a permis de résoudre certaines contradictions soulevées auparavant par Kohn et al. (1995) et Bannink et al. (1997). Ces deux auteurs avaient en effet comparé les modèles à partir de données établies dans des conditions de régime très différentes, limitant ainsi la possibilité de généraliser leurs résultats. D'autre part, dans notre étude et contrairement à Bannink et de Visser (1997), les modèles ont été utilisés et comparés sans subir de transformations, donc dans des conditions identiques à celles de tout utilisateur. Enfin, nous avons privilégié une approche statistique permettant d'analyser la capacité des modèles à prédire les variations observées en inter- ou en intra-essai. Toutes ces spécificités de notre démarche ont permis d'aboutir à une étude comparative plus efficace et précise que les précédentes.

Les résultats de notre étude ont montré que la prédiction de la digestion de l'amidon à partir des paramètres de dégradation *in sacco* était déjà assez satisfaisante. La prédiction du flux duodénal d'azote microbien par le CNCPS présentait également une bonne précision alors que les autres modèles sont moins satisfaisants sur cet aspect. D'autres études ont par ailleurs été conduites avec pour objectif plus spécifique de modéliser la dynamique microbienne (Dijkstra, 1994b). La digestion des fibres reste, par contre, un problème essentiel à revoir, compte tenu du rôle déterminant de la fibre non digérée vis à vis de la valeur énergétique des régimes. Plusieurs points doivent être reconsidérés et discutés, notamment la définition des fractions utilisées, la cinétique de dégradation *in sacco* (Chapoutot, 1998), le délai dans la cinétique de dégradation, l'influence du pH et également le transit. La fraction de fibre non digestible, par exemple, est estimée par des méthodes différentes et plus ou moins valides, s'appuyant soit sur des données *in sacco*, soit sur la teneur en lignine de l'aliment. En outre, des efforts de recherche et d'intégration restent à faire pour prédire les équilibres et les flux d'acides gras volatils.

Dans tous les cas, les modèles n'ont pas permis de prédire de façon satisfaisante les fortes variations inter-essais, qui peuvent être en partie expliquées par les conditions expérimentales (animal, stade physiologique, ration, méthodes de mesure et de dosage...). Certains paramètres se sont révélés *a posteriori* très influents, notamment le niveau de matière sèche ingérée, la proportion de fourrage, la teneur en amidon des régimes et enfin le pH ruminal. La difficulté des modèles à prédire ces variations peut donc être attribuée à une mauvaise représentation des **interactions digestives** (influence et interaction entre facteurs). En effet, ces phénomènes d'interaction ont été peu modélisés jusqu'à présent. L'influence du pH ruminal sur la digestibilité des fibres était néanmoins représentée mais de façon variable selon les modèles. Une autre explication peut venir de l'absence de prise en

compte ou de la mauvaise estimation de certains paramètres (volume du rumen, flux de salive, taux de transit des particules). La part de variabilité intra- et inter-essais pourrait être considérée en définissant les paramètres par des variables aléatoires (moyenne et écart type associé) et non pas de façon déterministe. Cependant, le développement de modèles qui soient à la fois mécanistes, dynamiques et aléatoires reste encore peu accessible.

Les modèles mécanistes du rumen devraient être capables de **prédire les valeurs des aliments des tables** sur la base des caractéristiques indiquées (composition chimique, dégradabilité *in sacco*). Curieusement, cet aspect a rarement été explicité et vérifié ! En outre, ces modèles doivent introduire de nouveaux aspects par rapport aux systèmes d'unités d'alimentation. Ils doivent notamment inclure et prédire d'autres facteurs qui ne sont pas intégrés dans les caractéristiques des aliments mais qui influent sur les flux absorbables de nutriments. Ces facteurs, qui permettent de « passer » des aliments aux rations, sont liés à l'animal ou encore aux conditions d'élevage (environnement, management). Ils doivent être introduits afin de représenter les lois de réponse observées expérimentalement. Enfin, ces modèles mécanistes permettent de considérer les phénomènes « dynamiques » de plus ou moins long terme. La problématique de la dynamique d'ingestion et de digestion des aliments a déjà été abordée (Sauvant et van Milgen, 1995; Sauvant et al., 1996) mais la compréhension fine des phénomènes reste aujourd'hui limitée et aucun modèle publié n'est vraiment satisfaisant de ce point de vue. D'autre part, l'élaboration de modèles dynamiques présente certaines difficultés spécifiques. Il est nécessaire d'examiner précisément les différents mécanismes de délais et de réévaluer les rôles de nombreux phénomènes (compartiments, voies métaboliques...) considérés comme futiles en situation de « steady state ». Enfin, pour la résolution des équations différentielles, des valeurs initiales, souvent inconnues, doivent être affectées à chaque compartiment. Ces valeurs sont parfois difficiles à estimer et peuvent perturber les simulations par l'existence possible de minima locaux.

L'élaboration des modèles est une démarche difficile à toutes les différentes étapes: formalisation des systèmes, paramétrage, validation. Les modèles du rumen développés jusqu'à maintenant n'ont pas donné des résultats leur permettant de se substituer aux approches empiriques classiques. D'autre part, les modèles mécanistes développés restent pour l'instant plutôt destinés à la recherche. Seul le CNCPS (2000) a été développé pour être utilisable et applicable sur le terrain. Néanmoins, leur marge de progression ne semble pas être limitée et il n'est pas déraisonnable de croire que ces démarches ont un avenir prometteur.

l'intestin et des AGV absorbés au niveau du rumen ne permet pas de conclure à l'avantage du glucose ou des AGV (Owens et al., 1986; Huntington, 1997; Rigout et al., 2003).

Jusqu'à présent, peu d'études quantitatives ont porté sur la prédiction des flux digestifs d'amidon (Nocek et Tamminga, 1991; Sauvant, 1997a). Notre étude a permis de regrouper de manière la plus exhaustive possible des expériences indépendantes intégrant toutes des mesures des flux digestifs d'amidon. L'élaboration de bases de données présente de nombreux avantages et favorise notamment la traçabilité des données utilisées.

Pour l'étude de la prédiction des flux d'amidon au niveau du rumen, il a été décidé de considérer les différents aliments individuellement car la littérature était relativement bien fournie en résultats de dégradation *in sacco* de l'amidon. Compte tenu du fait que nous avons pu ainsi disposer de données sur tous les aliments amylacés utilisables, nous avons établi une large table de composition et de valeur DT de l'amidon. Ces valeurs de DT ont été reprises lors de l'élaboration des tables INRA-AFZ. La valeur de la dégradabilité théorique des régimes des expériences de notre base *in vivo* a été déterminée par la somme pondérée (par les proportions d'amidon apportées dans le régime) des DT de ses constituants. Les résultats ainsi obtenus peuvent donc être en partie biaisés car il n'y a pas nécessairement additivité de ces composants de la ration (Poppi et al., 1990; Archimède et al., 1995; Munford, 1996). En effet, des interactions digestives entre constituants, positives ou bien négatives, peuvent se produire. Il convient de noter que le taux de dégradation *in sacco* (k_d) de l'amidon d'une ration a été déterminé par la relation suivante $k_p \times (a - DT) / (DT - a - b)$ et non pas par l'hypothèse d'additivité des taux de dégradation des composantes de la ration !

L'étude a fourni des résultats globalement satisfaisants. L'équation « intra » proposée pour prédire la digestibilité ruminale *in vivo* à partir des DT *in sacco* a été comparée aux autres équations proposées dans la littérature (Fig. 2). Ces équations proviennent d'autres études de méta-analyse (Tableau 1), celle de Nocek et Tamminga (1991), non reprise, était uniquement basée sur 9 observations.

Tableau 1

Relations « intra-essais » de prédiction de la digestibilité ruminale de l'amidon (Rd, %) à partir de la dégradabilité théorique (DT, %) *in sacco*

	Rd	n	R ²	etr, %
Offner et Sauvant, 2003a	26,3 + 0,63 DT	179	0,93	6,1
Nozière et al., 2003a	23,6 + 0,83 DT	14	0,96	7,2
Rigout, 2002	-0,06 + 0,88 DT	89	0,96	4,6
Sauvant, 1997a	45,6 + 0,48 DT	20	0,71	5,4

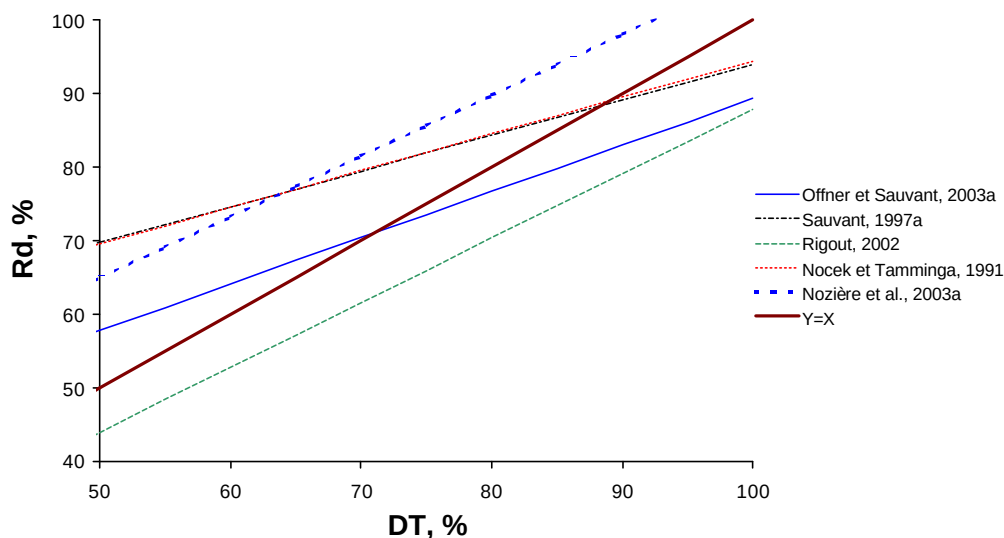


Fig. 2. Relations entre la dégradabilité théorique (DT) de l'amidon *in sacco* et sa digestibilité ruminale (Rd) *in vivo*.

Certaines différences peuvent être observées entre ces équations. Ainsi, pour une même valeur de DT, une différence d'environ 20 points sépare les équations de Rigout (2002) et Nozière et al. (2003a) ! Les pentes des régressions sont aussi sensiblement différentes d'une référence à l'autre. Notre proposition se situe dans une position plutôt intermédiaire, en outre, compte tenu des valeurs de l'écart-type résiduel et des nombres de données, notre équation est la plus précise en terme de qualité prédictive. La méthodologie *in sacco* tend à sous-estimer la digestion *in vivo* des amidons lents; au contraire, elle tend à surestimer la digestion des amidons rapides. Plusieurs hypothèses sont avancées pour expliquer ces différences. Dans le cas des amidons lents, la digestion peut être sous-estimée par l'absence de comminution particulière au cours de la procédure de mesure *in sacco*, qui peut affecter notablement les amidons lents (Ewing et Johnson, 1987). D'autre part, lorsque les fermentations sont peu actives, des interactions négatives dans les sachets sont susceptibles de modifier quantitativement ou qualitativement les populations microbiennes. Par contre, dans le cas des amidons rapides, la dégradation peut être surestimée par la dispersion de petites particules d'amidon (non dégradée) avec la fraction de rinçage des sachets (Michalet-Doreau, 1990) ou par le stockage plus important d'amidon dans les bactéries et les protozoaires.

La **taille des particules** modifie sensiblement la dégradation de l'amidon et vraisemblablement le transit. Nos résultats ont montré, sur 16 observations, une baisse de la digestibilité de l'amidon de 5,1 ($\pm$ 3,6) points lorsque la taille moyenne des particules du

régime augmentait de 1 mm. Un travail récent de Nozière et al. (2003b) confirme notre résultat avec un coefficient légèrement plus élevé de 6,7 ($\pm 2,2$) points. Cet aspect est digne d'intérêt pour les aliments susceptibles de subir des degrés de broyage ou hachage variables tels que l'ensilage de maïs. La prédiction de la digestion de l'amidon à partir des mesures *in sacco* peut être sensiblement améliorée par la prise en compte de facteurs liés à l'animal et non plus à l'aliment. Notre étude souligne la forte influence du **niveau de MS ingérée**, qui traduit vraisemblablement l'influence du transit des particules. Il est possible de comparer la digestibilité ruminale de l'amidon pour une vache fortement productrice, ingérant 25 kg de MS par jour d'une ration à 75 % d'ensilage de maïs broyé à 3 mm et une vache ingérant 20 kg de MS par jour d'une ration à 75 % d'ensilage de maïs à 4 mm. Nos résultats indiquent que la quantité d'amidon by-pass sera plus importante dans le premier cas (+ 475 g / j).

Un « **effet rumen** » important a aussi pu être mis en évidence dans ce travail: les conditions ruminales, notamment le pH, la concentration et le profil en AGV sont étroitement liées à l'activité amylolytique dans le rumen. Cette activité est plus importante avec des régimes riches en amidon entraînant de fortes concentrations d'AGV et principalement de propionate, malheureusement nous ne disposons pas d'indicateurs simples à mesurer pour évaluer cet aspect. Il pourrait être intéressant de chercher à savoir dans quelle mesure des variations du taux butyreux du lait pourraient être liées aux effets observables au niveau du rumen (Sauvant, 1997a; Rigout, 2002).

Peu de données permettent de quantifier de façon distincte les flux d'amidon digérés dans l'intestin grêle et dans le gros intestin. Comme pour le rumen, les relations établies pour ces flux s'appliquent à l'ensemble de la ration et non plus aux aliments. Nous avons comparé la relation proposée par Nocek et Tamminga (1991) pour prédire la digestibilité de l'amidon dans l'intestin grêle avec l'équation similaire issue de notre base de données (Fig. 3). Les pentes observées sont voisines, néanmoins la digestibilité dans l'intestin grêle est apparue plus faible dans notre étude, particulièrement lorsque les quantités d'amidon entrant sont faibles. Les amidons lents, qui se traduisent par des flux entrants accrus, sont moins bien digérés que les amidons rapides au niveau de l'intestin grêle. Ce phénomène traduit vraisemblablement une capacité digestive amylacée limitée de l'intestin grêle, comme cela a déjà pu être supposé par différents auteurs (Owens et al., 1986; Matthe et al., 2001). Les quantités d'amidon digéré dans cette partie sont, par contre, plus importantes avec des amidons lents.

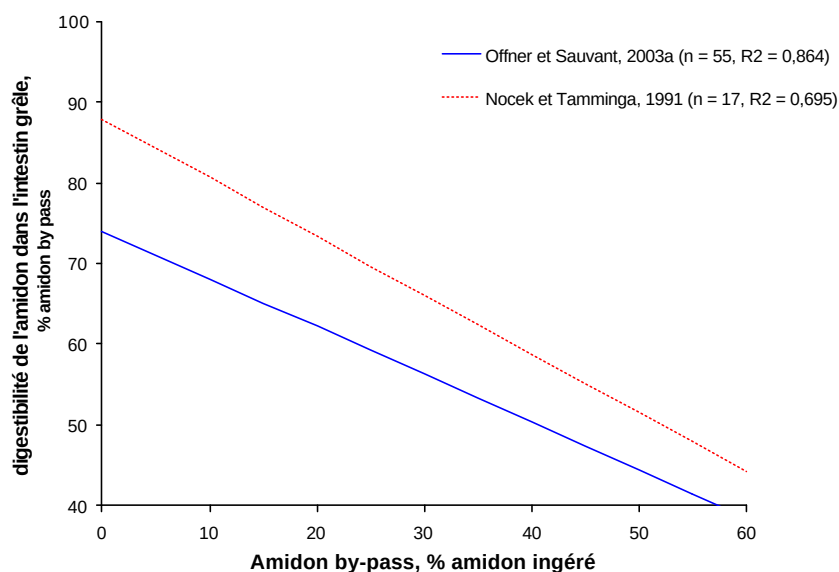


Fig. 3. Relations de prédiction de la digestibilité de l'amidon au niveau de l'intestin grêle.

Enfin, environ 50 % de l'amidon entrant dans le gros intestin y est digéré. Nous avons montré que cet organe joue un rôle compensatoire efficace puisque la digestibilité de l'amidon à ce niveau augmente avec le niveau de MS ingérée ou lorsque la digestibilité dans l'intestin grêle diminue.

En conclusion de ce travail, un système de prédiction empirique des flux d'amidon a été développé à partir de paramètres simples liés aux aliments ingérés et à l'animal (Fig. 4). Ce modèle permet d'envisager le contrôle, par la formulation des régimes, des fermentations et de la nature des nutriments absorbés par l'animal et peut permettre d'aider à maîtriser les risques ou certaines réponses recherchées. Cette étude apporte des perspectives d'application dans les systèmes d'évaluation des aliments et en formulation des régimes. En effet, chaque matière première amylacée peut être caractérisée, en fonction de sa nature et du traitement technologique subi, par la partition digestive de sa fraction amidon (Tables INRA-AFZ, 2002). L'introduction des données proposées en formulation (par exemple: contraintes sur les quantités d'amidon dégradables) est immédiate. La détermination des niveaux des contraintes à atteindre se fait sur la base de l'influence de la partition digestive de l'amidon sur l'ingestion et la production, en particulier la production de lait, le taux butyreux et le taux protéique du lait (Sauvant, 1997a; Rigout, 2002).

Des perspectives de recherche sont à envisager pour approfondir et quantifier les conséquences des variations des sites de digestion de l'amidon, par exemple en terme de MOF, donc de croissance microbienne, de pH et de profils d'AGV effectivement produits (Sauvant, 1997a). Enfin, compte tenu de la lourdeur et du coût de la mesure de dégradation *in sacco* de l'amidon, il est possible de chercher à individualiser les valeurs de DT par

mesure de la dégradabilité *in vitro* en laboratoire sous l'action d'amylase (Chapoutot et al., 2003). La comparaison entre les prédictions du système proposé et celles de systèmes existants (CNCPS, NRC) montre une bonne cohérence entre les systèmes. L'utilisation d'un système basé sur l'amidon offre par contre d'autres avantages, notamment parce que l'amidon est mesurable par analyse directe. Cependant, différentes méthodes de mesure (polarimétrique, enzymatique) sont utilisées et leur comparaison peut présenter des écarts d'estimation notables (Suedekum et al., 2003).

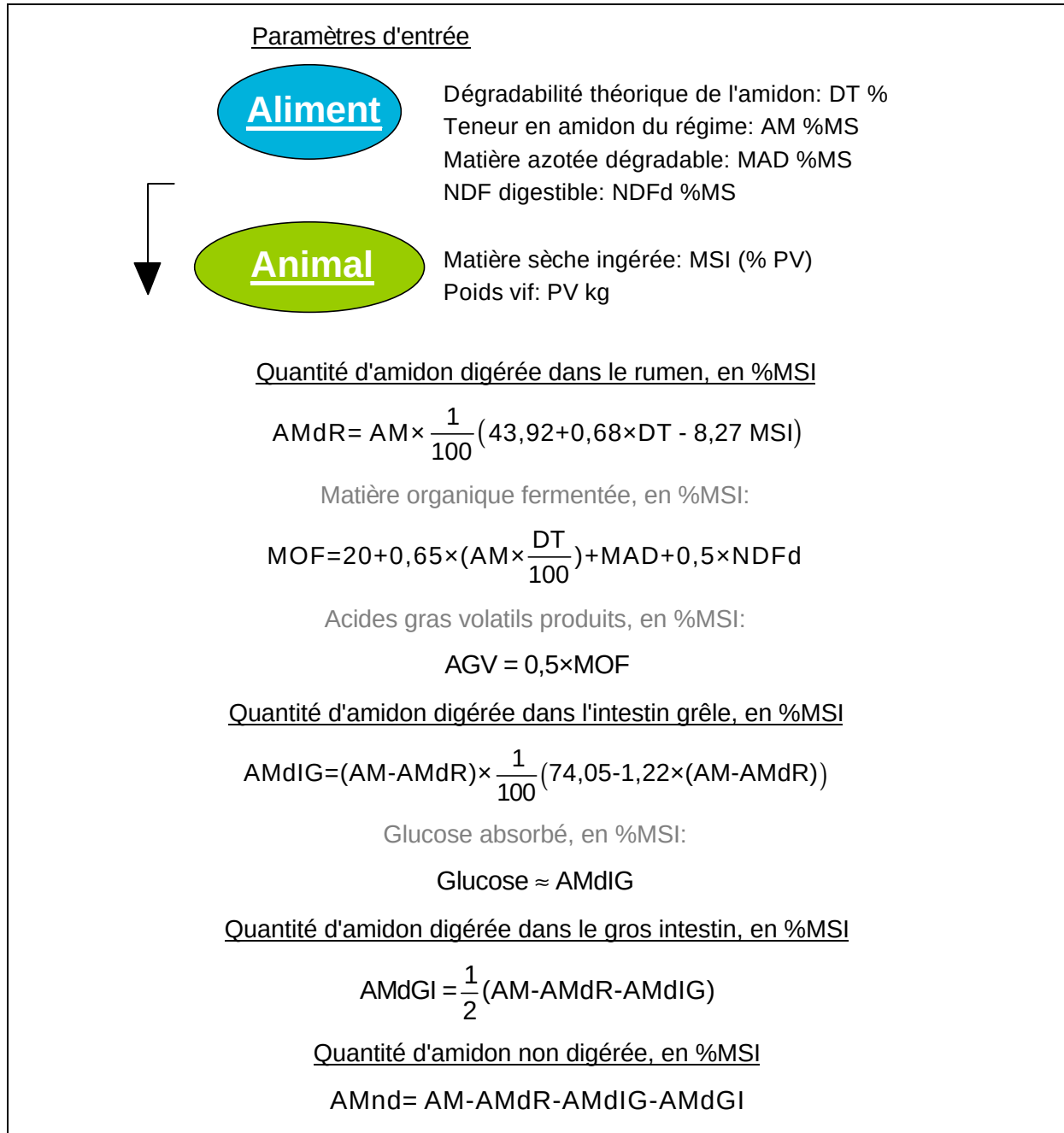


Fig. 4. Principe du modèle empirique de prédiction des flux digestifs d'amidon:
Paramètres et équations.

Le travail de validation montre que les résultats intra-essai de notre étude présentent une assez bonne précision. Cependant, il convient de rappeler qu'une forte variabilité inter-essais a pu être mise en évidence, sans qu'il soit possible de la rattacher à des facteurs bien précis. En cela, les résultats reflètent donc une propriété fondamentale des systèmes biologiques et des méthodes analytiques qui est leur variabilité ou imprévisibilité. La variabilité se décompose entre la variabilité biologique (intra et inter individuelle) et la variabilité expérimentale (conditions d'expérience, biais méthodologique). Dans notre cas, la variabilité expérimentale est très forte. Une part de variabilité dépend de causes difficiles à connaître et à étudier. La méta-analyse ne permet pas de prédire précisément la réponse d'un animal pris individuellement. La perspective de s'approcher des réponses individuelles de chaque animal peut être envisagée en élaborant des bases de données sur des résultats individuels. Malgré ces difficultés, cette étude a été conduite de façon à pouvoir extrapoler les résultats, notamment à la vache laitière (peu de données sur la digestion intestinale) et à d'autres espèces de ruminants. Pour les petits ruminants, il est généralement considéré que la mastication des céréales est plus efficace (Hale, 1973; Campling, 1991). Leur capacité à digérer l'amidon serait donc plus importante et l'effet des traitements technologiques sur les céréales serait réduit en conséquence.

3. Développement d'un modèle du métabolisme ruminal basé sur les lois thermodynamiques

Compte tenu des limites actuelles des modèles du rumen, une approche plus « pointue » a été envisagée en considérant les **lois de la thermodynamique** comme force motrice majeure de l'écosystème ruminal. L'objectif principal de notre approche était d'améliorer la compréhension et la prévision de la partition des flux de carbone entre les microbes, les gaz et les AGV. Cette partition était considérée comme fixe ou peu flexible dans les modèles du rumen publiés jusqu'alors. On cherchait notamment à mieux prédire les variations du **profil des AGV** au cours des fermentations. Le rumen, comme les systèmes vivants, est un système ouvert, traversé par des flux de matière et d'énergie. La thermodynamique y joue donc vraisemblablement un rôle important et cet aspect a été assez rarement abordé (Kohn et Boston, 2000). D'autres approches biochimiques ont été envisagées, Sauvante et al. (1995b) ont centré leur démarche sur le rôle de l'ATP et du NADH dans les régulations. Sur un principe proche, une étude par programmation linéaire a également été entreprise (Sauvante, non publié). D'autre part, un modèle « générique » de stœchiométrie du métabolisme cellulaire a été établi récemment par van Milgen (2002). Son

objectif est de faire le lien entre les voies métaboliques (anabolisme et catabolisme) et le concept d'énergie nette. Chaque réaction est présentée sous forme d'un bilan quantitatif autour de « pivots biochimiques », qui sont soit des chaînes carbonées intermédiaires soit des co-facteurs.

Ces dernières approches étudient le système en « steady-state ». Nous avons cherché à aller plus loin dans ces démarches en particulier à rendre compte de la dynamique de court terme (échelle de temps de l'ordre de la minute) des phénomènes impliqués. Notre étude s'appuie sur le calcul et la mesure de l'**énergie libre de Gibbs** qui permet d'évaluer la spontanéité et le sens des réactions biochimiques supposées réversibles. Sur cette base, un modèle dynamique des fermentations a été développé. Les flux suivent une loi d'action de masse ce qui est classique, cependant les taux fractionnaires de réaction sont déterminés en partie par les variations d'énergie libre. Les variations d'énergie libre standard ont été établies à partir de valeurs « tables » et ajustées pour la température du rumen. Les difficultés liées à l'élaboration de ce modèle ont été assez nombreuses. Le système étudié est un système ouvert, n'atteignant donc jamais un état d'équilibre interne. En outre, le système mis en place est contrôlé par un réseau de réactions métaboliques, il a donc un comportement non sommatif de ce qui se passe pour chaque réaction considérée seule. Les équations thermodynamiques classiques présentées dans le ouvrages de biochimie supposent être en système fermé et sont appliquées à des réactions prises séparément. En conséquence, l'emploi de ces équations aboutit à des comportement *a priori* surprenants par rapport à ce que l'on pourrait attendre. D'autre part, le système correspond à un ensemble de relations non linéaires et les compartiments (substrats, produits) ont des tailles et des taux fractionnaires de renouvellement très variables. Toutes ces propriétés rendent le modèle très sensible et difficile à paramétrer.

Néanmoins, ce modèle permet de représenter de façon assez satisfaisante l'évolution postprandiale des rapports entre les principaux AGV. Par contre, les simulations du pH et du potentiel d'oxydo-réduction restent insatisfaisantes. Le pH a varié de façon opposée à ce qui était attendu, ce qui peut s'expliquer par une mauvaise représentation des phénomènes de dissociation des acides ou des effets tampons. D'autre part, une valeur de potentiel redox était affectée à chaque couple d'oxydo-réduction; les valeurs prises ont varié fortement et, malgré les forces de rappel, aucun phénomène de convergence « asymptotique » entre ces valeurs n'a été observé à l'état « d'équilibre dynamique » du système. Les perspectives d'utilisation de ce modèle thermodynamique impliquent de reconsidérer certaines hypothèses fortes; notamment, celles concernant le potentiel d'oxydo-réduction et le pH. Le potentiel d'oxydo-réduction et le pH intracellulaire ont été considérés comme égal au potentiel et pH du milieu. Cette relation est vraisemblable pour le potentiel grâce à la diffusion de l'hydrogène moléculaire (Mosey, 1983), cependant nous n'avons pas

explicitement pris en compte la force proton motrice (PMF). Par contre, Russell (1991) a montré que la sensibilité des bactéries au pH du milieu était très variable. En effet, certaines espèces présentent des valeurs de pH intracellulaire identiques au milieu extérieur tandis que d'autres (pH sensibles) maintiennent un pH interne constant.

Cette étude a confirmé l'importance du **statut énergétique des microbes** dans l'orientation des fermentations (Sauvant et van Milgen, 1995). Elle fournit une hypothèse mécaniste pour expliquer certaines observations expérimentales, notamment la diminution du ratio acétate / propionate et la baisse du méthane produit lorsque les régimes présentent une densité énergétique forte ou en période d'excès transitoire d'énergie. Parmi les hypothèses avancées précédemment, Russell (1998) suggère une inhibition de la méthanogenèse par la chute du pH, observée lors de fermentations intenses. Les principes de la thermodynamique abordent ce problème différemment. Les différentes voies métaboliques sont plus ou moins efficaces, cette efficacité, qui peut être diversement évaluée (énergie de Gibbs, nombre d'ATP formé par C terminal), varie aussi selon les conditions du milieu et notamment la disponibilité en substrat (hydrogène pour la méthanogenèse). L'hypothèse thermodynamique stipule que les microbes peuvent ainsi « s'adapter » selon leur propre statut énergétique. Néanmoins, ce statut énergétique est difficile à évaluer. D'une part, les microbes ont des capacités de stockage variables en polysaccharides, entre 2 et 35 % de sa MS (Sauvant et van Milgen, 1995), et en lipides, entre 5 et 25 % de sa MS (Bas et al., 2003). D'autre part, il est actuellement impossible de quantifier directement, et de décrire de façon mécaniste, l'utilisation microbienne d'ATP et/ou de NADH (Erfle et al., 1986). L'excès d'énergie peut cependant être évalué par la mesure en ATP du milieu (Erfle et al., 1981). L'utilisation d'ATP entre en jeu dans de multiples contextes: synthèse de biomasse, transport actif de particules, gestion des équilibres ioniques, mouvements intracellulaires, déplacement des cellules et encore transfert de l'information génétique. Heijnen (1994) préconise d'adopter une autre approche thermodynamique, également basée sur les équilibres biochimiques et l'énergie libre, pour estimer l'efficacité de la croissance microbienne. Westerhoff et al. (1983) estiment que l'efficacité thermodynamique est faible et avoisine 24 % lorsque les substrats utilisés sont sous forme plus oxydée que la biomasse. Des études complémentaires peuvent être envisagées, par exemple pour mettre en relation les indicateurs du statut cellulaire (rapport ATP/ADP) avec des indicateurs mesurables expérimentalement (ex.: activité enzymatique).

Dans la littérature disponible, cette approche des régulations du métabolisme ruminal est originale. Cependant, la représentation adoptée n'est pas exhaustive. Par souci de simplification, seules les principales voies métaboliques ont été représentées dans le

modèle. Il n'introduit donc pas les cycles futiles, qui pourraient dans certaines circonstances jouer un rôle important. D'autre part, les lois de la thermodynamique, telles qu'elles ont été représentées, ne suffisent pas à tout expliquer. Les modèles basés sur la **cinétique** (Costello et al., 1991; Siegrist et al., 1993) utilisent des lois de type Michaelis-Menten qui traduisent mieux l'influence des enzymes sur les réactions. Hoh et Cord-Ruwisch (1996) ont développé un modèle cinétique intégrant les effets d'inhibition liés à l'accumulation des produits terminaux. La nécessité de prendre en compte ces effets confirme l'importance des lois thermodynamiques. Par contre, la modélisation de plusieurs populations microbiennes fait plus appel aux **lois de la biologie et de l'écologie des populations**, qui permettent de rechercher les mécanismes responsables de l'adaptation des populations aux pressions sélectives exercées dans le milieu. Les nombreuses interactions entre espèces microbiennes doivent alors être intégrées (Murphy et Sauvart, 2003). En parallèle de ces différentes approches mécanistes, d'autres études, plus empiriques, ont été entreprises pour améliorer la prédiction des profils d'AGV dans le rumen qui s'appuient en général sur les stœchiométries moyennes établies par Murphy et al. (1982). Dijkstra (1994a) suggère de prendre en compte non seulement la composition des substrats, mais aussi leur disponibilité et la nature des espèces microbiennes présentes dans le rumen. Nagorcka et al. (2000) ont établi de nouveaux coefficients stœchiométriques de ces profils selon les substrats mais surtout en distinguant trois groupes bactériens (bactéries amylolytiques, bactéries cellulolytiques et protozoaires).

Nous avons choisi de poursuivre l'étude thermodynamique par une **approche expérimentale** des fermentations *in vitro*. Compte tenu de nos objectifs, ce travail a été innovant sur de nombreux aspects. Il a été conduit simultanément à deux échelles d'étude: à moyen terme (périodes de l'ordre de jours, en fermenteur) et à court terme (périodes de l'ordre de minutes et heures, en batch). Les inoculums utilisés en batch sont ainsi caractérisés précisément. D'autre part, le plan d'expérience utilisé pour cette dernière étude a permis une combinaison de quatre facteurs expérimentaux: mode d'apport du glucose, pH, potentiel d'oxydo-réduction et pression d'H₂. Une méthode de découplage des effets liés au pH et au potentiel d'oxydo-réduction a donc dû être mise en oeuvre lors de cette expérimentation.

Les résultats obtenus sont riches par le nombre d'observations et leur singularité. Des modèles d'ajustement des productions d'AGV et de gaz aux paramètres expérimentaux ont été développés. Les questions de recherche soulevées et les perspectives de cette étude concernent à la fois la modélisation et l'expérimentation. En effet, le jeu de données obtenus peut être valorisé pour une approche de modélisation mécaniste des fermentations. D'autre

part, il serait intéressant d'étudier les effets des facteurs choisis sur d'autres inoculums « type » et en faisant varier les apports de glucose.

En conclusion, cette étude thermodynamique a permis de mettre en évidence la forte complémentarité entre l'approche analytique expérimentale et l'approche systémique; ces deux approches sont indissociables: l'expérimentation permet de fournir des estimations de paramètres nécessaires pour faire tourner les modèles. Les données expérimentales servent également de jeu de validation des modèles.

Conclusion et perspectives

Notre travail a permis d'aborder la modélisation systémique de la digestion dans le rumen avec différents niveaux d'étude et avec des approches variées, autant en terme d'objectifs que de moyens.

La première étape du travail portant sur la comparaison des modèles du rumen a fourni des résultats permettant de guider les utilisateurs potentiels dans le choix d'un modèle le plus approprié à leurs besoins, en fonction notamment des paramètres étudiés. Les résultats ont souligné que certaines prédictions étaient peu satisfaisantes, avec des écarts importants entre valeurs observées et valeurs simulées. Il a ainsi été possible de déterminer les domaines de recherche qui nécessitent d'être approfondis, en particulier les stœchiométries fermentaires. Cette étude a également permis d'appliquer **une démarche de validation et de comparaison** des modèles. Cette démarche est basée sur le développement et l'utilisation de bases de données, elle comprend plusieurs étapes assez longues et fastidieuses de reprise de données et de calcul des paramètres spécifiques pour faire fonctionner les différents modèles ainsi que des validations inter et intra expérience. De ce fait, la méthode appliquée a été conduite de façon tout à fait rigoureuse et peut être recommandée comme « **bonne pratique** » pour la comparaison d'autres modèles existants.

La seconde partie du travail a porté plus précisément sur l'étude des flux digestifs d'amidon et a abouti à des résultats concrets puisqu'elle a conduit:

- à l'élaboration de **valeurs « tables » INRA-AFZ de la dégradabilité de l'amidon *in sacco*** des matières premières.
- au développement d'un **modèle de prédiction de la partition digestive** de l'amidon entre le rumen, l'intestin grêle et le gros intestin.
- à l'étude des **conséquences** de cette partition pour « l'environnement ruminal ». Cet aspect a permis de dégager des lois de réponse aux variations de teneurs en amidon digestible, en particulier pour la matière organique fermentescible, les interactions digestives ou encore les équilibres des acides gras volatils produits.
- à des propositions en vue d'améliorer les systèmes d'unités d'alimentation actuellement utilisés.

Dans ce domaine, il serait intéressant de poursuivre les travaux pour mettre en relation les paramètres de dégradabilité théorique avec des paramètres mesurables en routine *in vitro* (action enzymatique, production de gaz) car l'obtention de nouvelles valeurs de dégradabilité *in sacco* nécessite une méthodologie lourde à mettre en oeuvre. Les perspectives de recherche concernent également la reprise de l'étude des réponses zootechniques aux variations du site de digestion de l'amidon, aspect non abordé dans notre travail.

Enfin, **en troisième partie**, l'approche thermodynamique des fermentations a apporté des résultats moins finalisés mais qui contribuent à comprendre les mécanismes de régulation qui orientent les voies métaboliques. Une première démarche de modélisation a été entreprise; les **limites** du modèle développé ont suscité le recours à **l'expérimentation**. Ces deux approches se sont révélées être très **complémentaires**. L'expérimentation a conduit au développement de modèles empiriques portant principalement sur les effets du pH, du potentiel d'oxydo-réduction et de la pression partielle en H_2 . Cette approche «en dualité» mérite d'être poursuivie pour aider au développement d'un modèle mécaniste des fermentations à l'aide des données obtenues. Les perspectives de modélisation dans ce domaine incluent également l'utilisation d'autres méthodes, en particulier la programmation linéaire et l'intervention d'automaticiens, de manière à pouvoir tenter de mieux représenter les différentes régulations impliquées.

Références bibliographiques

- AFRC**, 1993. Agricultural and Food Research Council, technical committee on responses to nutrients. Energy and protein requirements of ruminants. CAB international, Wallingford, U.K., 160p.
- Agnew, R.E., Newbold, J.R.**, 2002. Nutritional standards for dairy cattle. Report of the British Society of Animal Science, 42p.
- Alderman, G.**, 1998. Current feeding requirement systems and their limitations. In: Response in the yield of milk constituents to the intake of nutrients by dairy cows. Alderman, G. (ed.). CAB international, 5-21.
- Archimède, H., Sauvant, D., Dorléans, M., Chapoutot, P., Poncet, C.**, 1995. Influence of the nature of forage and concentrate on the digestive interactions measured *in sacco* and *in vivo*. Anim. Feed Sci. Technol. 54, 341-356.
- Baldwin, R.L.**, 2000. History and future of modelling nutrient utilization in farm animals. In: Modelling nutrient utilization in farm animals. McNamara, J.P., France, J., Beever, D.E. (eds). CAB international, 1-9.
- Baldwin, R.L., Lucas, H.L., Cabrera, R.**, 1970. Energetic relationships in the formation and utilization of fermentation end-products. In: Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. Phillipson, A. T. (ed.). Oriel Press, Newcastle, 319-335.
- Baldwin, R.L., Thornley, J.H.M., Beever, D.E.**, 1987. Metabolism of the lactating cow II. Digestive elements of a mechanistic model. J. Dairy Res. 54, 107-131.
- Bannink, A., De Visser, H.**, 1997. Comparison of mechanistic rumen models on mathematical formulation of extramicrobial and microbial processes. J. Dairy Sci. 80, 1296-1314.
- Bannink, A., De Visser, H., van Vuuren, A.M.**, 1997. Comparison and evaluation of mechanistic rumen models. Brit. J. Nutr. 78, 563-581.
- Bas, P., Archimède, H., Rouzeau, A., Sauvant, D.**, 2003. Fatty acid composition of mixed-rumen bacteria: effect of concentration and type of forage. J. Dairy Sci. 86, 2940-2948.
- Bastianelli, D., Sauvant, D., Rerat, A.**, 1996. Mathematical modeling of digestion and nutrient absorption in pigs. J. Anim. Sci. 74, 1873-1887.
- Beever, D.E., France, J., Alderman, G.**, 2000. Prediction of response to nutrients by ruminants through mathematical modelling and improved feed characterization. In: Feeding systems and feed evaluation models. Theodorou, M.K., France, J. (eds). CAB international, 275-297.

- Bernier, J.J., Adrian, J., Vidon, N.,** 1988. Les aliments dans le tube digestif. Doin (eds). Paris, France, 468p.
- Box, G.E.P.,** 1979. Robustness in the strategy of scientific model building. In: Robustness in Statistics. Launer, R.L., Wilkinson, G.N. (eds). Academic Press, New York, 201-236.
- Broudiscou, L.-P., Papon, Y., Fabre, M., Broudiscou, A.F.,** 1997. Maintenance of rumen protozoa populations in a dual outflow continuous fermenter. J. Sci. Food Agric. 75, 273-280.
- Buchanan-Smith, J.G., Gill, M., France, J., Beever, D.E.,** 1990. Modelling the metabolism of growth in cattle. In: Modelling digestion and metabolism in farm animals. Robson, A.B., Poppi, D.P. (eds). Lincoln University Press, New Zealand, 263-276.
- Bywater, A.C.,** 1984. A generalised model of feed intake and digestion in lactating cows. Agr. Syst. 13, 167-186.
- Calsamiglia, S., Ferret, A., Devant, M.,** 2002. Effects of pH and pH fluctuations on microbial fermentation and nutrient flow from a dual-flow continuous culture system. J. Dairy Sci. 85, 574-579.
- Campling, R.C.,** 1991. Processing cereal grains for cattle - a review. Livest. Prod. Sci. 28, 223-234.
- Chapoutot, P.,** 1998. Etude de la dégradation *in situ* des constituants pariétaux des aliments pour ruminants. Thèse de docteur de l'Institut National Agronomique Paris-Grignon, France.
- Chapoutot, P., Giger-Reverdin, S., Dorléans, M., Sauvant, D.,** 2003. Comparaison de la dégradabilité *in sacco* et *in vitro* (méthode enzymatique) de l'amidon des aliments pour les ruminants. *soumis pour publication Renc. Rech. Ruminants*.
- Charlet, J., Reynaud, C, Teulier, R.,** 2001. Ingénierie des connaissances pour les systèmes d'information. In: Ingénierie des systèmes d'information. Cauvet, C., Sabroux-Rosenthal, C. (eds). Hermès, Traité IC2, 10, 277-316.
- CNCPS,** 2000. Cornell Net Carbohydrate and Protein System. The Cornell University Nutrient Management Planning System. CNCPS version 4.0, Model documentation, 236p.
- Costello, D.J., Greenfield, P.F., Lee, P.L.,** 1991. Dynamic modelling of a single-stage high-rate anaerobic reactor I. Model derivation. Wat. Res. 25, 847-858.

- Danfær, A.**, 1990. A dynamic model of nutrient digestion and metabolism in lactating dairy cows. Beretning fra Statens Husdyrbrugsforsig, 671 Copenhagen, Denmark, 511p.
- Davies, A.W., Taylor, K.**, 1965. Application of the autoanalyser in a river authority laboratory. In: Symposium Technicon, Technicon, Tarrytown, 294-300.
- Demarquilly, C., Faverdin, P., Geay, Y., Vérité, R., Vermorel, M.**, 1996. Bases rationnelles de l'alimentation des ruminants. INRA Prod. Anim., hors série, 71-80.
- Demeyer, D.I., van Nevel, C.J.**, 1975. Methanogenesis, an integrated part of carbohydrate fermentation and its control. In: Digestion and metabolism in the ruminant. McDonald, I.W., Warner, A.C.I. (eds). University of New England Publishing, Armidale, 366-382.
- Dijkstra, J.**, 1993. Mathematical modelling and integration of rumen fermentation processes. PhD Thesis, Wageningen Agricultural University, Department of Animal Nutrition, Wageningen, The Netherlands, 221p.
- Dijkstra, J.**, 1994a. Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. Livest. Prod. Sci. 39, 61-69.
- Dijkstra, J.**, 1994b. Simulation of the dynamics of protozoa in the rumen. Br. J. Nutr. 72, 679-699.
- Dijkstra, J., France, J.**, 1996. A comparative evaluation of models of whole rumen function. Ann. Zootech., 45, suppl.1, IVth international symposium on the nutrition of herbivores, 175-192.
- Dijkstra, J., Bannink, A.**, 2000. Analyses of modelling whole rumen function. In: Feeding systems and feed evaluation models. Theodorou, M.K., France, J. (eds). CAB international, 299-322.
- Dijkstra, J., Neal, H., Beever, D.E., France, J.**, 1992. Simulation of nutrient digestion, absorption and outflow in the rumen: model description. J. Nutr. 122, 2239-2256.
- DiMarco, O.N., Baldwin, R.L., Calvert, C.C.**, 1989. Simulation of DNA, protein and fat accretion in growing steers. Agric. Sys. 29, 21-34.
- Erfle, J.D., Sauer, F.D., Mahadevan, S.**, 1986. Energy metabolism in rumen microbes. In: Control of digestion and metabolism in ruminants. Milligan, L.P., Grovum, W.L., Dobson, A. (eds). Prentice Hall, 81-99.

- Erfle, J.D., Mahadevan, S., Sauer, F.D.,** 1988. Relationship between adenylate energy charge, rumen volatile fatty acid concentrations, and rates of production and dry matter digestibility in the cow. *J. Dairy Sci.* 64, 634-642.
- Ewing, D.L., Johnson, D.E.,** 1987. Corn particle starch digestion, passage and size reduction in beef steers: a dynamic model. *J. Anim. Sci.* 64, 1194-1204.
- Fjord, N.J.,** 1889. 2det aars fodringsforsøg med malkekøer. Sammenligning mellem kraftfoder og roer. In: Syttende beretning fra den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskoles Laboratorium for landøkonomiske Forsøg. J. H. Schubothes Boghandel, København.
- France, J., Thornley, J., Beever, D.,** 1982. A mathematical model of the rumen. *J. Agric. Sci. Camb.* 99, 343-353.
- France, J., Theodorou, M.K., Lowman, R.S., Beever, D.E.,** 2000. Feed evaluation for animal production. In: Feeding systems and feed evaluation models. Theodorou, M.K., France, J. (eds). CAB international, 1-9.
- Gill, M., Thornley, J.H.M., Black, J.L., Oldham, J.D., Beever, D.E.,** 1984. Simulation of the metabolism of absorbed energy-yielding nutrients in young sheep. *Br. J. Nutr.* 52, 621-649.
- Glass, G.V.,** 1976. Primary, secondary and meta-analysis of research. *Educ. Res.* 5, 3-90.
- Hale, W.H.,** 1973. Influence of processing on the utilization of grains (starch) by ruminants. *J. Dairy Sci.* 37, 1075-1080.
- Heijnen, S.J.,** 1994. Thermodynamics of microbial growth and its implications for process design. *Tibtech* 12, 483-492.
- Hoh, C.Y., Cord-Ruwisch, R.,** 1996. A practical kinetic model that considers endproduct inhibition in anaerobic digestion processes by including the equilibrium constant. *Biotechnol. Bioeng.* 51, 597-604.
- Huntington, G.B.,** 1997. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *J. Anim. Sci.* 75, 852-867.
- Illius, A.W., Gordon, I.J.,** 1991. Prediction of intake and digestion in ruminants by a model of rumen kinetics integrating animal size and plant characteristics. *J. Agr. Sci. Camb.* 116, 145-157.
- INRA,** 1988. Institut National de la Recherche Agronomique. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Jarrige, R. (ed.). INRA editions, Paris, France, 476p.

- INRA***tion*, 1988. Logiciel d'aide au rationnement développé par l'INRA et diffusé par le CNERTA-ENESAD, Dijon.
- Kohn, R.A., Boston, R.C.**, 2000. The role of thermodynamics in controlling rumen metabolism. In: *Modelling Nutrient Utilization in Farm Animals*. McNamara, J.P., France, J., Beever, D.E. (eds). CAB international, 11-24.
- Kohn, R.A., Boston, R.C., Ferguson, J.D., Chalupa, W.**, 1995. The integration and comparison of dairy cows models. In: *Proceedings of the IVth international workshop on modelling nutrient utilization in farm animals*. Danfaer, A., Lescoat P. (eds). Foulum, Denmark, 117-128.
- Kristensen, N.B.**, 2000. Quantification of whole blood short-chain fatty acids by gas chromatographic determination of plasma 2-chloroethyl derivatives and correction for dilution space in erythrocytes. *Acta Agric. Scand., Sect A, Animal Sci.* 50, 231-236.
- Lassalas, B., Jouany, J.P., Broudiscou, L.-P.**, 1993. Dosage des bases puriques et pyrimidiques par chromatographie liquide à haute performance. *Ann. Zootech.* 42, 170-171.
- Legay-Carmier, F.**, 1989. Effet de rations riches en matières grasses sur le métabolisme lipidique des principaux compartiments microbiens du contenu de rumen chez la vache laitière; conséquences sur le flux duodénal des constituants microbiens. Thèse, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand II.
- Leroy, A.M.**, 1943. *Elevage rationnel des animaux domestiques*. 4^{ème} édition. Hachette, Paris, 368p.
- Lescoat, P., Sauvant, D.**, 1994. Influence de la proportion de concentré dans la ration sur le profil ruminal des AGV. *Ann. Zootech.* 43, suppl. 1, 28.
- Lescoat, P., Sauvant, D.**, 1995. Development of a mechanistic model for rumen digestion validated using the duodenal flux of amino acids. *Reprod. Nutr. Dev.* 35, 45-70.
- Madsen, J.**, 1985. The basis for the nordic protein evaluation system for ruminants. The AAT/PBV system. *Acta Agr. Scand., suppl.* 25, 9-20.
- Mathison, G.W.**, 1996. Effects of processing on the utilization of grain by cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 58, 113-125.
- Matthe, A., Lebzien, P., Hric, I., Flachowsky, G., Sommer, A.**, 2001. Effect of starch application into the proximal duodenum of ruminants on starch digestibility in the small and total intestine. *Arch. Tierernahr.* 55, 351-369.

- Michalet-Doreau, B.**, 1990. Influence of the type of feed on the significance of particle loss in the measurement of *in sacco* degradability of feed nitrogen. *Reprod. Nutr. Dev.* suppl. 2, 151s-152s.
- Michalet-Doreau, B., Martin, C., Doreau, M.**, 1997. Optimisation de la digestion des parois végétales dans le rumen: quantification des interactions digestives. *Renc. Rech. Ruminants* 4, 103-112.
- Mills, J.A.N., France, J., Dijkstra, J.**, 1999a. A review of starch digestion in the lactating dairy cow and proposals for a mechanistic model I. Dietary starch characterisation and ruminal starch digestion. *J. Anim. Feed Sci.*, 219-340.
- Mills, J.A.N., France, J., Dijkstra, J.**, 1999b. A review of starch digestion in lactating dairy cow and proposals for a mechanistic model II. Postruminal starch digestion and small intestinal glucose absorption. *J. Anim. Feed Sci.* 8, 541-581.
- Mills, J.A.N., Dijkstra, J., Bannink, A., Cammell, S.B., Kebreab, E., France, J.**, 2001. A mechanistic model of whole-tract digestion and methanogenesis in the lactating dairy cow: Model development, evaluation, and application. *J. Anim. Sci.* 79, 1584-1597.
- Minaire, Y., Foucherand, F., Studiévic, C.**, 1965. Adaptation du dosage de l'acide lactique par voie enzymatique à l'autoanalyse. Symposium Technicon, Technicon France.
- Mosey, F.E.**, 1983. Mathematical modelling of the anerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile fatty acids from glucose. *Wat. Sci. Technol.* 15, 209-232.
- Munford, A.G.**, 1996. The use of iterative linear programming in practical applications of animal diet formulation. *Math. Comput. Simulat.* 42, 255-261.
- Murphy, M.R., Sauvant, D.**, 2003. Meta-analysis of interactions between major rumen fibrolytic bacteria in solubilizing and utilizing substrates, *submitted*.
- Murphy, M.R., Baldwin, R.L., Koong, L.J.**, 1982. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 55, 411-421.
- Murphy, M.R., Baldwin, R.L., Ulyatt, M.J., Koong, L.J.**, 1983. A quantitative analysis of rumination patterns. *J. Anim. Sci.* 56, 1236-1240.
- Nagorcka, B.N., Gordon, G.L.R., Dynes, R.A.**, 2000. Towards a more accurate representation of fermentation in mathematical models of the rumen. In: *Modelling Nutrient Utilization in Farm Animals*. McNamara, J.P., France, J., Beever, D.E. (eds). CAB international, 37-48.

- Nocek, J.E., Tamminga, S.,** 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 74, 3598-3629.
- Nozière, P., Michalet-Doreau, B., Rémond, D., Fernandez, I., Philippeau, C., Poncet, C.,** 2003a. Relationship between *in sacco* degradation and ruminal digestion of starch. 6th International Symposium on the Nutrition of Herbivores, Mexico, *submitted*.
- Nozière, P., Michalet-Doreau, B., Rémond, D., Philippeau, C., Flors, C.,** 2003b. Particle size and *in sacco* degradation of starch. 6th International Symposium on the Nutrition of Herbivores, Mexico, *submitted*.
- NRC,** 2001. National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th revised edition, National Academy Press, Washington, USA, 408p.
- Offner, A., Sauvant, D.,** 2003a. Prediction of *in vivo* starch digestion in cattle from *in situ* data. *accepted in Anim. Feed Sci. Technol.*
- Offner, A., Sauvant, D.,** 2003b. Comparative evaluation of three rumen models, *submitted*.
- Offner, A., Sauvant, D.,** 2003c. Contribution of ruminally degraded starch to the prediction of fermentable organic matter for ruminants. *J. Dairy Sci.* 86, suppl. 1, 267.
- Offner, A., Bach, A., Sauvant, D.,** 2003. Quantitative review of *in situ* starch degradation in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 106, 81-93.
- Okine, E.K., Cherry, R., Kennelly, J.J.,** 1994. Glucose and amino acid transport and metabolism in flat duodenal sheets of dairy cattle at three stages of lactation. *Comparative Biochemistry & Physiology. A, Physiology* 107, 4, 719-726.
- Olomucki, M.,** 1991. La chimie du vivant. Hachette, 135p.
- Ørskov, E.R.,** 1986. Starch digestion and utilization in ruminants. *J. Anim. Sci.* 63, 1624-1633.
- Ørskov, E.R., McDonald, I.,** 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci. Camb.* 92, 499-503.
- Owens, F.N., Zinn, R.A., Kim, Y.K.,** 1986. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *J. Anim. Sci.* 63, 1634-1648.
- Petruzzi, H., Danfæ, A., Nørgaard, P.,** 2002. A dynamic simulation model of nutrient digestion in the rumen of dairy cows. *J. Anim. Feed Sci.* 11, 367-397.
- Pignon, J.P., Poynard, T.,** 1991. Méta-analyse des essais thérapeutiques. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 15, 229-238.

- Pitt, R., van Kessel, J., Fox, D., Pell, A., Barry, M., van Soest, P.,** 1996. Prediction of the ruminal volatile fatty acids and pH within the Net Carbohydrate and Protein System. *J. Anim. Sci.* 74, 226-244.
- Poppi, D.P., Gill, M., France, J., Dynes, R.A.,** 1990. Additivity in intake models. In: *Modelling digestion and metabolism in farm animals*. Robson, A.B., Poppi, D.P. (eds). Lincoln University Press, New Zealand, p29.
- Rigout, S.,** 2002. Effet de la disponibilité en glucose sur le métabolisme mammaire et conséquences sur la production du lait chez la vache laitière. Thèse de docteur de l'école nationale supérieure agronomique de Rennes, France, 159p.
- Rigout, S., Hurtaud, C., Lemosquet, S., Bach, A., Rulquin, H.,** 2003. Lactational effect of propionic acid and duodenal glucose in cows. *J. Dairy Sci.* 86, 243-253.
- Russell, J.B.,** 1991. Resistance of *Streptococcus bovis* to acetic acid at low pH: relationship between intracellular pH and anion accumulation. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 255-259.
- Russell, J.B.,** 1998. The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 81, 3222-3230.
- Russell, J.B., O'Connor, J., Fox, D., van Soest, P., Sniffen, C.,** 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets I. Ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.* 70, 3551-3561.
- Sauvant, D.,** 1988. La modélisation de la digestion dans le rumen. *Reprod. Nutr. Dev.* 28, suppl. 1, 33-58.
- Sauvant, D.,** 1992. La modélisation systémique en nutrition. *Reprod. Nutr. Dev.* 32, 217-230.
- Sauvant, D.,** 1997a. Conséquences digestives et zootechniques des variations de la vitesse de digestion de l'amidon chez les ruminants. *INRA Prod. Anim.* 10, 287-300.
- Sauvant, D.,** 1997b. Rumen mathematical modelling. In: *The rumen microbial ecosystem*, Hobson, P.N., Stewart, C.S. (eds). 2nd edition, Chapman & Hall, 685-708.
- Sauvant, D., van Milgen, J.,** 1995. Les conséquences de la dynamique de la digestion des aliments sur le métabolisme ruminal et les performances animales. *INRA Prod. Anim.* 8, 353-367.
- Sauvant, D., Chapoutot, P., Archimède, H.,** 1994. La digestion des amidons par les ruminants et ses conséquences. *INRA Prod. Anim.* 7, 115-124.

- Sauvant, D., Dijkstra, J., Mertens, D., 1995a.** Optimisation of ruminal digestion: a modelling approach. In: Recent developments in the nutrition of herbivores. Journet, M., Grenet, E., Farce, M.-H., Thériez, M., Demarquilly, C. (eds). INRA editions, Paris, 143-165.
- Sauvant, D., van Milgen, J., Lescoat, P., 1995b.** Modélisation de la régulation de la stoechiométrie des fermentations ruminales par la disponibilité en ATP et en NADH₂. Ann. Zootech. 44, suppl.: 167.
- Sauvant, D., Baumont, R., Faverdin, P., 1996.** Development of a mechanistic model of intake and chewing activities of sheep. J. Anim. Sci. 74, 2785-2802.
- Sauvant, D., Meschy, F., Mertens, D., 1999.** Les composantes de l'acidose ruminale et les effets acidogènes des rations. INRA Prod. Anim. 12, 49-60.
- Sauvant, D., Perez, J.-M., Tran, G., (coord.), 2002.** Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage. INRA editions, Paris, 301p.
- Siciliano-Jones, J., Murphy, M.R., 1989.** Nutrient digestion in the large intestine as influenced by forage to concentrate ratio and forage physical form. J. Dairy Sci. 72, 471-484.
- Siegrist, H., Renggli, D., Gujer, W., 1993.** Mathematical modelling of anaerobic mesophilic sewage sludge treatment. Wat. Sci. 27, 25-36.
- Sniffen, C., O'Connor, J., van Soest, P., Fox, D., Russell, J., 1992.** A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets II. Carbohydrate and protein availability. J. Anim. Sci. 70, 3562-3577.
- St-Pierre, N.R., 2001.** Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. J. Dairy Sci. 84, 741-755.
- Strobel, H.J., Russell, J.B., 1986.** Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. J. Dairy Sci. 69, 2941-2947.
- Suedekum, K.-H., Hall, M.B., Paschke-Beese, M., 2003.** Comparison of different starch analysis methods for feedstuffs. J. Anim. Sci. 81, suppl. 1, 151.
- Tamminga, S., van Straalen, W.M., Subnel, A.P.J., Meijer, R.G.M, Steg, A., Wever, C.J.G., Blok, M.C., 1994.** The Dutch protein evaluation system: the DVE/OEB-system. Livest. Prod. Sci. 40, 139-155.

- Theurer, C.B.**, 1986. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. *J. Anim. Sci.* 63, 1649-1662.
- Thompson, S.G., Pocock, S.J.**, 1991. Can meta-analyses be trust ? *Lancet* 338, 1127-1130.
- van Milgen, J.**, 2002. Modeling biochemical aspects of energy metabolism in mammals. *J. Nutr.* 132, 3195-3202.
- Vega de, A., Gasa, J., Castrillo, C., Guada, J.A.**, 1998. Passage through the rumen and the large intestine of sheep estimated from faecal marker excretion curves and slaughter trials. *Br. J. Nutr.* 80, 381-389.
- Vérité, R., Michalet-Doreau, B., Chapoutot, P., Peyraud, J.L., Poncet, C.**, 1987. Révision du système des protéines digestibles dans l'intestin (P.D.I.). *Bull. Tech. CRZV Theix, INRA*, 70, 19-34.
- Vermorel, M., Coulon, J.B.**, 1992. Alimentation des vaches laitières: comparaison des systèmes d'alimentation énergétique. *INRA Prod. Anim.* 5, 289-298.
- Ward, R.T., Stevenson, M.J., Patton, R.A.**, 2003. Relationship of starch content in common forages to dry matter, crude protein, non-fiber carbohydrate and neutral detergent fiber. *J. Anim. Sci.* 81, suppl. 1, 284.
- Webster, A.F.J.**, 1992. The metabolizable protein system for ruminants. In: *Recent advances in animal nutrition*. Garnsworthy, P., Haresign, W., Cole, D.J.A. (eds). Butterworth Heinemann, Oxford, 93-110.
- Westerhoff, H.V., Hellingwerf, K.J., van Dam, K.**, 1983. Thermodynamic efficiency of microbial growth is low but optimal for maximal growth rate. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 80, 305-309.
- Wolff, E.**, 1874. *Farm foods or the rational feeding of livestock*. Gurney and Jackson, London.

Annexes

1. Liste de références: systèmes d'évaluation des aliments et des besoins des animaux	175
2. Liste de références: modèles du rumen	177
3. Liste de références: base de données « dégradabilité de l'amidon <i>in sacco</i> »	179
4. Valeurs des paramètres et liste des équations du modèle thermodynamique	183
5. Posters	190

Annexe 1

Liste de références : systèmes d'évaluation des aliments et des besoins des animaux (Fig. 1, p.7)

1. AFRC, 1987. Agricultural and Food Research Council, technical committee on responses to nutrients. Characterisation of feedstuffs. Nutr. Abstr. Rev., Series B57.
2. AFRC, 1990. Agricultural and Food Research Council, technical committee on responses to nutrients. Report No.5: The nutritive requirements of ruminant animals: Energy. Nutr. Abstr. Rev., Series B60, 729-804.
3. AFRC, 1992. Agricultural and Food Research Council, technical committee on responses to nutrients. Report No.9: Nutritive requirements of Ruminant Animals: Protein, 50p.
4. AFRC, 1993. Agricultural and Food Research Council, technical committee on responses to nutrients. Energy and protein requirements of ruminants, CAB international, UK., 160p.
5. ARC, 1965. Agricultural Research Council. The nutrient requirements of farm livestock. No.2: Ruminants: technical reviews and summaries. London, 278p.
6. ARC, 1980. Agricultural Research Council. The nutrient requirements of ruminant livestock: technical review by an agricultural research council working party. CAB, Farnham Royal, Slough, 351p.
7. ARC, 1984. Agricultural Research Council. Report of the protein group of the Agricultural Research Council Working Party on the Nutrient Requirements of Ruminants - Supplementary Report to Chapter 4 (ARC, 1980). CAB, Farnham Royal, Slough.
8. INRA, 1978. Institut National de la Recherche Agronomique. Tables de l'alimentation des ruminants. INRA Editions, Paris, 112p.
9. INRA, 1988. Institut National de la Recherche Agronomique. Alimentation des bovins, ovins et caprins. R. Jarrige (ed.). INRA Editions, Paris, 471p.
10. INRA, 2002. Institut National de la Recherche Agronomique. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage. D. Sauvant, J.-M. Perez et G. Trand (coord.). INRA Editions, Paris, 301p.
11. Kellner, O., 1905. Die Ernährung der Landwirtschaftlichen Nutztiere Verlagsbuchhandlung. Paul Parey, Berlin.
12. Leroy, A.M., 1929. Elevage rationnel des animaux domestiques. 1^{ère} ed., Hachette, Paris.
13. Leroy, A.M., 1943. Elevage rationnel des animaux domestiques. 4^{ème} ed., Hachette, Paris, 368p.
14. Madsen, J., 1985. The basis for the nordic protein evaluation system for ruminants. The AAT/PBV system. Acta Agr. Scand., suppl. 25, 9-20.
15. MAFF, 1921. Ministry of agriculture, fisheries and food. Rations for livestock, 1st edition, Bulletin No.48, HMSO, London.

-
16. MAFF, 1960. Ministry of agriculture, fisheries and food. Rations for livestock, 15th edition, Bulletin No.48, HMSO, London.
 17. MAFF, 1975. Ministry of agriculture, fisheries and food. Energy allowances and feeding systems for ruminants. Technical bulletin No.33, HMSO, London, 79p.
 18. MAFF, 1984. Ministry of agriculture, fisheries and food. Energy allowances and feeding systems for ruminants. Ref. book No.433, HMSO, London, 85p.
 19. MAFF, 1993. Ministry of agriculture, fisheries and food. Prediction of the energy values of compound feeding stuffs for farm animals, HMSO, London.
 20. NRC, 1945. National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. National Academy Press, Washington, USA.
 21. NRC, 1950. National Research Council. Nutrient requirements of beef cattle. National Academy Press, Washington, USA.
 22. NRC, 1956. National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. National Academy Press, Washington, USA.
 23. NRC, 1970. National Research Council. Nutrient requirements of domestic animals. National Academy Press, Washington, USA.
 24. NRC, 1976. National Research Council. Nutrient requirements of beef cattle. 5th revised edition, National Academy Press, Washington, USA.
 25. NRC, 1978. National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. 5th revised edition, National Academy Press, Washington, USA.
 26. NRC, 1984. National Research Council. Nutrient requirements of beef cattle. 6th revised edition, National Academy Press, Washington, USA.
 27. NRC, 1988. National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. 6th revised edition, National Academy Press, Washington, USA, 167p.
 28. NRC, 1996. National Research Council. Nutrient requirements of beef cattle. 7th edition, National Academy Press, Washington, USA, 242p.
 29. NRC, 2000. National Research Council. Nutrient requirements of beef cattle. 7th revised edition, National Academy Press, Washington, USA, 248p.
 30. NRC, 2001. National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th revised edition, National Academy Press, Washington, USA, 408p.
 31. SCA, 1990. Standing Committee of Agriculture. Feeding standards for australian livestock. CSIRO publications, Melbourne.
 32. Tamminga, S., van Straalen, W.M., Subnel, A.P.J., Meijer, R.G.M., Steg, A., Wever, C.J.G. and Blok, M.C., 1994. The Dutch protein evaluation system: the DVE/OEB-system. Livest. Prod. Sci., 40, 139-155.

Annexe 2

Liste de références : modèles du rumen (Fig. 2, p.8)

1. Baldwin, R.L., Lucas, H.L. and Cabrera, R., 1970. Energetic relationships in the formation and utilization of fermentation end-products. In: Physiology of digestion and metabolism in the ruminant, Phillipson A. T. (ed.). Oriel Press, Newcastle, 319-335.
2. Baldwin, R.L., Koong, L.J. and Ulyatt, M.J., 1977. A dynamic model of ruminant digestion for evaluation of factors affecting nutritive value. *Agric. Syst.*, 2, 255-288.
3. Baldwin, R.L., Thornley, J.H.M. and Beever, D.E., 1987. Metabolism of the lactating cow. II. Digestive elements of a mechanistic model. *J. Dairy Res.*, 54, 107-131.
4. Bannink, A. and de Visser, H., 1997. Comparison of mechanistic rumen models on mathematical formulation of extramicrobial and microbial processes. *J. Dairy Sci.*, 80, 1296-1314.
5. Bannink, A., de Visser, H. and van Vuuren, A.M., 1997. Comparison and evaluation of mechanistic rumen models. *Br. J. Nutr.*, 78, 563-581.
6. Black, J.L., Beever, D.E., Faichney, G.J., Howarth, B.R. and McC. Graham, N., 1981. Simulation of the effects of rumen function on the flow of nutrients from the stomach of sheep: part 1 - description of a computer program. *Agric. Syst.*, 6, 195-219.
7. Chilibraste, P., Aguilar, C. and García, F., 1997. Nutritional evaluation of diets. Simulation model of digestion and passage of nutrients through the rumen-reticulum. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 68, 259-275.
8. Danfær, A., 1990. A dynamic model of nutrition, digestion and metabolism in lactating dairy cows. Ph.D. Thesis, Report 671, National Institute of Animal Science, Denmark.
9. Dijkstra, J., Neal, H., Beever, D. and France, J., 1992. Simulation of nutrient digestion, absorption and outflow in the rumen: model description. *J. Nutr.* 122, 2239-2256.
10. Dijkstra, J., 1994. Simulation of the dynamics of protozoa in the rumen. *Br. J. Nutr.*, 72, 679-699.
11. Dijkstra, J., and France, J., 1996. A comparative evaluation of models of whole rumen function. *Ann. Zootech.*, 45, suppl. 1, 175-192.
12. France, J., Thornley, J.H.M. and Beever, D.E., 1982. A mathematical model of the rumen. *J. Agric. Sci. Camb.*, 99, 343-353.
13. Kohn, R.A., Boston, R.C., Ferguson, J.D. and Chalupa, W., 1995. The integration and comparison of dairy cows models. In: Proceedings of the IVth international workshop on modelling nutrient utilisation in farm animals, Danfær, A. and Lescoat, P. (eds). Foulum, Denmark, 117-128.
14. Lescoat, P. and Sauvant, D., 1995. Development of a mechanistic model for rumen digestion validated using the duodenal flux of amino acids. *Reprod. Nutr. Dev.*, 35, 45-70.

-
15. Murphy, M.R., Baldwin, R.L. and Ulyatt, M.J., 1986. An update of a dynamic model of ruminant digestion. *J. Anim. Sci.*, 62, 1412-1422.
 16. Offner, A. and Sauvant, D., 2003. Comparison of three rumen models, *submitted*.
 17. Petruzzzi, H., Danfær, A. and Nørgaard, P., 2002. A dynamic simulation model of nutrient digestion in the rumen of dairy cows. *J. Anim. Feed Sci.*, 11, 367-397.
 18. Ramangasoavina, B. and Sauvant, D., 1993. Validation comparée de 3 modèles de digestion ruminale pour prédire les flux azotés duodénaux microbiens. *Ann. Zootech.*, 42, 164-165.
 19. Reichl, J.R. and Baldwin, R.L., 1975. Rumen modeling: rumen input-output balance models. *J. Dairy Sci.*, 58, 879-890.
 20. Sauvant, D., 1988. La modélisation de la digestion dans le rumen. *Reprod. Nutr. Dev.*, 28, suppl. 1, 33-58.
 21. Sauvant, D., Dijkstra, J. and Mertens, D., 1995. Optimisation of ruminal digestion: a modelling approach. In: *Recent developments in the nutrition of herbivores*, Journet, M., Grenet, E., Farce, M.-H., Thériez, M., Demarquilly, C. (eds). INRA editions, Paris, 143-165.
 22. Sauvant, D., 1997. Rumen mathematical modelling. In: *The rumen microbial ecosystem*, Hobson, P.N. and Stewart, C.S. (eds). 2nd edition, Chapman & Hall, 685-708.
 23. Sniffen, C.J., O'Connor, J.D., van Soest, P.J., Fox, D.G. and Russell, J.B., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.*, 70, 3562-3577.
 24. Ulyatt, M.J., Baldwin, R.L. and Koong, L.J., 1976. The basis of nutritive value - a modelling approach. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.*, 36, 140-149.
 25. van Soest, P.J., Sniffen, C.J., Mertens, D.R., Fox, D.G., Robinson, P.H. and Krishnamoorthy, U., 1982. A net protein system for cattle: the rumen submodel for nitrogen. In: *Symposium on Protein Requirements for Cattle*, Owens F. N. (ed.). Oklahoma State University, Stillwater, 265-279.

Annexe 3

Liste de références : base de données « dégradabilité de l'amidon *in sacco* »

1. Aleksiaë D., 1996. Investigation on the dynamics of digestion of nutrients in feedstuffs and diets for milk production. Review of research work at the faculty of agriculture, 41, 77-88.
2. Alert, H.-J. and Poppe, S., 1994. Trockensubstanz und nährstoffverlust bei futtermitteln nach inkubation im pansen (nylonbeutel technik). Arch. Anim. Nutr., 47, 181-186.
3. Anzola, H., Doran, B. and Owens, F.N., 1988. Processed grains: disappearance of dry matter and starch from mobile dacron bags. Animal Science Research Report, 185-188.
4. Arieli, A., Bruckental, I., Kedar, O. and Sklan, D., 1995. *In sacco* disappearance of starch, nitrogen and fat in processed grains. Anim. Feed Sci. Technol., 51, 287-295.
5. Batajoo, K.K. and Shaver, R.D., 1998. *In situ* dry matter, crude protein, and starch degradabilities of selected grains and by-product feeds. Anim. Feed Sci. Technol., 71, 165-176.
6. Bock, B.J., Brandt, R.T., Harmon, D.L., Anderson, S.J., Elliott, J.K. and Avery, T.B., 1991. Mixtures of wheat and high-moisture corn in finishing diets: feedlot performance and *in situ* rate of starch digestion in steers. J. Anim. Sci., 69, 2703-2710.
7. Boss, D.L. and Bowman, J.G.P., 1996. Barley varieties for finishing steers: II. ruminal characteristics and rate, site, and extent of digestion. J. Anim. Sci., 74, 1973-1981.
8. Campbell, C., Owens, F.N. and Anzola, H., 1988. Influence of grain source (wheat vs. corn) on ruminal and postruminal starch and amino acid degradation in heifers using a mobile dacron bag technique. Animal Science Research Report, 219-223.
9. Cerneau, P. and Michalet-Doreau, B., 1991. *In situ* starch degradation of different feeds in the rumen. Reprod. Nutr. Dev., 31, 65-72.
10. Chapoutot, P. and Sauvant, D., 2000. *Personal communication*.
11. De Visser, H., 1993. Influence of carbohydrates on feed intake, rumen fermentation and milk performance in high-yielding dairy cows. Ph.D. Thesis. Wageningen Agricultural University, Netherlands, 174p.
12. Engstrom, D.F., Mathison, G.W. and Goonewardene, L.A., 1992. Effect of β -glucan, starch, and fibre content and steam vs. dry rolling of barley grain on its degradability and utilisation by steers. Anim. Feed Sci. Technol., 37, 33-46.
13. Gaebe, R.J., Sanson, D.W., Rush, I.G., Riley, M.L., Hixon, D.L. and Paisley, S.I., 1998. Effects of extruded corn or grain sorghum on intake, digestibility, weight gain, and carcasses of finishing steers. J. Anim. Sci., 76, 2001-2007.
14. Garnsworthy, P.C. and Wiseman, J., 2000. Rumen digestibility of starch and nitrogen in near-isogenic lines of wheat. Anim. Feed Sci. Technol., 85, 33-40.

-
15. Goelema, J.O., Hof, G., van der Poel, A.F.B. and Tamminga, S., 1996. Effect of particle size, cold pelleting, steam pelleting and expander treatment on the rumen degradability of a compound feed for ruminants. *J. Dairy Sci.*, 79, suppl. 1, 142.
 16. Goelema, J.O., Spreeuwenberg, M.A.M., Hof, G., van der Poel, A.F.B. and Tamminga, S., 1998. Effect of pressure toasting on the rumen degradability and intestinal digestibility of whole and broken peas, lupins and faba beans and a mixture of these feedstuffs. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 76, 35-50.
 17. Goelema, J.O., Smits, A., Vaessen, L.M. and Wemmers, A., 1999. Effects of pressure toasting, expander treatment and pelleting on *in vitro* and *in situ* parameters of protein and starch in a mixture of broken peas, lupins and faba beans. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 78, 109-126.
 18. Goelema, J.O., 1999. Processing of legume seeds: effects on digestive behaviour in dairy cows. Chap 3, 4 and 6. Ph.D. Thesis. Wageningen Agricultural University, Netherlands, 221p.
 - 18'. Yu, P., Goelema, J.O. and Tamminga, S., 1999. Influence of pressure toasting on starch ruminal degradative kinetics and fermentation characteristics and gelatinization of whole horse beans (*Vicia faba*) in lactating dairy cows. *Asian Australas. J. Anim. Sci.*, 12, 537-543.
 19. Grings, E.E., Roffler, R.E. and Deitelhoff, D.P., 1992. Evaluation of corn and barley as energy sources for cows in early lactation fed alfalfa-based diets. *J. Dairy Sci.*, 75, 193-200.
 20. Herrera-Saldana, R.E., Huber, J.T. and Poore, M.H., 1990. Dry matter, crude protein, and starch degradability of five cereal grains. *J. Dairy Sci.*, 73, 2386-2393.
 21. Huhtanen, P., Poutiainen, E. and Mikkola, T., 1985. The effect of supplementation of grass silage with rapeseed meal or gasol-treated barley on the performance of growing cattle. *J. Agr. Sci. Finland*, 57, 75-84.
 22. Krehbiel, C.R., Stock, R.A., Shain, D.H., Richards, C.J., Ham, G.A., McCoy, R.A., Klopfenstein, T.J., Britton, R.A and Huffman, R.P., 1995. Effect of level and type of fat on subacute acidosis in cattle fed dry-rolled corn finishing diets. *J. Anim. Sci.*, 73, 2438-2446.
 23. Kreikemeier, K.K., Harmon, D.L., Brandt, R.T., Nagaraja, T.G. and Cochran, R.C., 1990. Steam-rolled wheat diets for finishing cattle: effects of dietary roughage and feed intake on finishing steer performance and ruminal metabolism. *J. Anim. Sci.*, 68, 2130-2141.
 24. Ladely, S.R., Stock, R.A., Klopfenstein, T.J. and Sindt, M.H., 1995. High-lysine corn as a source of protein and energy for finishing calves. *J. Anim. Sci.*, 73, 228-235.
 25. Landau, S., Nitsan, Z., Zoref, Z. and Madar, Z., 1992. The influence of processing corn grain on glucose metabolism in ewes. *Reprod. Nutr. Dev.*, 32, 231-240.
 26. Marshall, S.A., Campbell, C.P., Mandell, I.B. and Wilton, J.W., 1992. Effects of source and level of dietary neutral detergent fiber on feed intake, ruminal fermentation, ruminal digestion *in situ*, and total tract digestion in beef cattle fed pelleted concentrates with or without supplemental roughage. *J. Anim. Sci.*, 70, 884-893.

-
27. Mendoza, G.D., Britton, R.A. and Stock, R.A., 1993. Influence of ruminal protozoa on site and extent of starch digestion and ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.*, 71, 1572-1578.
 28. Michalet-Doreau, B., Philippeau, C. and Doreau, M., 1997. *In situ* and *in vitro* ruminal starch degradation of untreated and formaldehyde-treated wheat and maize. *Reprod. Nutr. Dev.*, 37, 305-312.
 29. Mills, J.A.N. et al., 1995. Atti XI Congresso ASPA, 19-22 giugno, Grado (UD), 11: 227.
 30. Nocek, J.E. and Tamminga, S., 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 74, 3598-3629.
 31. Nozière, P. and Michalet-Doreau, B., 1997. Effects of amount and availability of starch on amylolytic activity of ruminal solid-associated microorganisms. *J. Sci. Food Agric.*, 73, 471-476.
 32. Offner, A., Bach, A., Sauvant, D., 2000. Personal data.
 33. Ortega, M.E., Mendoza, G., Aguirre, S. and Carranco, M.E., 1998. Tratamiento con formaldehído de maíz y sorgo, efecto sobre la degradabilidad ruminal de la materia seca, almidón y proteína bruta. *Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim.*, 13, 13-19.
 34. Ortega-Cerrilla, M.E., Finlayson, H.J. and Armstrong, D.G., 1999. The effect of chemical treatment of barley on starch digestion in ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 77, 73-81.
 35. Pauly, T., Spörndly, R. and Udén, P., 1992. Rumen degradability *in sacco* of physically and chemically treated oat and barley grain. *J. Sci. Food Agric.*, 58, 465-473.
 36. Petit, H.V., Rioux, R. and Ouellet, D.R., 1997. Milk production and intake of lactating cows fed raw or extruded peas. *J. Dairy Sci.*, 80, 3377-3385.
 37. Philippeau, C., Le deschault de Monredon, F. and Michalet-Doreau, B., 1999. Relationship between ruminal starch degradation and the physical characteristics of corn grain. *J. Anim. Sci.*, 77, 238-243.
 38. Philippeau, C. and Michalet-Doreau, B., 1998. Influence of genotype and ensiling of corn grain on *in situ* degradation of starch in the rumen. *J. Dairy Sci.*, 81, 2178-2184.
 39. Philippeau, C., Landry, J. and Michalet-Doreau, B., 2000. Influence of the protein distribution of maize endosperm on ruminal starch degradability. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 404-408.
 40. Sindt, M.H., Stock, R.A., Klopfenstein, T.J. and Shain, D.H., 1993. Effect of protein source and grain type on finishing calf performance and ruminal metabolism. *J. Anim. Sci.*, 71, 1047-1056.
 41. Surber, L.M.M. and Bowman, J.G.P., 1998. Monensin effects on digestion of corn or barley high-concentrate diets. *J. Anim. Sci.*, 76, 1945-1954.
 42. Susmel, P., Spanghero, M., Stefanon, B. and Mills, C.R., 1998. Parametri fermentativi ruminali, digeribilità ed escrezione di derivati purinici di bovine alimentate con fonti amilacee diverse. *Zoot. Nutr. Anim.*, 24, 3-16.

-
43. Susmel, P., Spanghero, M. and Stefanon, B., 1999. Interpretation of rumen degradability of concentrate feeds with a gompertz model. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 79, 223-237.
 44. Tamminga, S., van der Togt, P., van der Koelen, C.J., Melieftste, C., Luttikhuis, M.P.M. and Claassen, G.D.H., 1989. Het gedrag van zetmeel in de pens van melkkoeien. *IVVO meded*, 14, 106p.
 45. Thomas, E.E., Turnbull, G.W. and Russell, R.W., 1988. Effect of particle size and steam treatment of feedstuffs on rate and extent of digestion (*in vitro* and *in situ*). *J. Anim. Sci.*, 66, 243-249.
 46. Walhain, P., Foucart, M. and Théwis, A., 1992. Influence of extrusion on ruminal and intestinal disappearance *in sacco* of pea proteins and starch. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 38, 43-55.
 47. Yang, W.Z., Beauchemin, K.A., Farr, B.I. and Rode, L.M., 1997. Comparison of barley, hull-less barley, and corn in the concentrate of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 80, 2885-2895.
 48. Zeoula, L.M., Martins, A.S., Prado, I.N., Alcalde, C.R., Branco, A.F. and Santos, G.T., 1999. Solubilidade e degradabilidade ruminal do amido de diferentes alimentos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 28, 5, 895-905.

Annexe 4

Valeurs des paramètres et liste des équations du modèle thermodynamique

PARAMETRES		
k = 1		Taux réverse des réactions (sens 1)
C = 10	Facteur de l'exponentielle utilisé pour la convergence des potentiels	
KA = 1E2		Taux de formation des acides
KA1 = 0.0001		Taux de sortie des AGV
KA2 = 0.005		Taux de sortie des anions correspondants
KCW = 0.0008		Taux de dégradation de la cellulose
KOUTCW = 0.0001		Taux de sortie de la cellulose
KST = 0.003		Taux de dégradation de l'amidon
KOUTST = 0.0001		Taux de sortie de l'amidon
KM = 0.0001		Taux de transit des micro-organismes
KMU = 0.075	Facteur de croissance des micro-organismes	
MUBAS = 0.001	Taux de croissance "basal" des micro-organismes	

Les valeurs initiales des différentes substances chimiques ont été choisies pour représenter des conditions typiques du rumen :

ST = 0	ACE = 0.07	HCO ₃ = 0.08
CW = 0.05	ACA = 1E-3	HPLUS = 3E-7
GLU = 1E-4	BUT = 0.01	NADH = 1E-3
PYR = 1E-8	ACB = 2E-4	NAD = 1E-3
LAC = 1E-3	VAL = 0.0008	ATP = 1.5E-3
ACL = 2E-6	ACV = 2E-4	ADP = 1.5E-3
PRO = 0.02	CH ₄ = 0.3	MSM = 2
ACP = 4E-4	CO ₂ = 0.7	
	H ₂ = 0.0005	

CONSTANTES		
F = 96.487		Constante de Faraday
R = 0.00831451		Constante des gaz parfaits
T = 311		Température en K
G0ATP = -9	Enthalpie libre de formation de l'ATP à pH=0	

Valeurs des potentiels redox des couples dans les conditions standards (pH = 0, T = 298K)

EvOV = 0.512	Pyruvate/Valérate
EvOL = 0.418	Lactate/Propionate
EvOPP = 0.318	Pyruvate/Propionate
EvOP = 0.229	Pyruvate/Lactate
EvOCO2ch = 0.170	CO ₂ /CH ₄
EvOCO2ac = 0.124	CO ₂ /Acétate
EvOH = 0	H ⁺ /H ₂
EvON = -0.113	NAD/NADH
EvOA = -0.228	Acétate/Pyruvate
EvOG = -0.290	Pyruvate/Glucose

Valeurs des pKa des acides

pKhco = 7.74	HCO ₃ ⁻
pKlac = 3.86	Lactate
pKpro = 4.87	Propionate
pKace = 4.75	Acétate
pKbut = 4.82	Butyrate
pKval = 4.84	Valérate

COMPARTIMENTS ET FLUX

COMPARTIMENT PAROI : CW

$$dCW/dt = INCW - CWGLU - OUTCW$$

$$INCW = PULSE (50/180, 1, 0, 1440)$$

$$CWGLU = KCW \times CW$$

$$OUTCW = KOUTCW \times CW$$

COMPARTIMENT AMIDON : ST

$$dST/dt = INST - STGLU - OUTST$$

$$INST = PULSE (25/180, 1, 0, 1440)$$

$$STGLU = KST \times ST$$

$$OUTST = KOUTST \times ST$$

COMPARTIMENT GLUCOSE : GLU

$$dGLU/dt = CWGLU + STGLU + PYGL - GLPY - OUTGLU$$

$$OUTGLU = 0.0001 \times GLU$$

$$\text{Glucose--pyruvate (1)}$$

$$GLPY = 2 \times 10 \times GLU \times NAD^2 \times ADP^2 \times \exp(C \times DEGLU)$$

$$PYGL = (2 \times 10 / K_{eq1}) \times PYR^2 \times NADH^2 \times ATP^2 \times \exp(-C \times DEGLU)$$

COMPARTIMENT PYRUVATE : PYR

$$dPYR/dt = 2GLPY - 2PYGL + ACPY - PYAC + LAPY - PYLA + 2BUPY - 2PYBU + PROPY - PYPRO + 2VALPY - 2PYVAL - PYMIC - OUTPY$$

$$OUTPY = KA2 \times PYR$$

$$\text{Pyruvate--lactate (2)}$$

$$PYLA = k \times PYR \times NADH \times \exp(C \times DEPYR)$$

$$LAPY = (k / K_{eq2}) \times LAC \times NAD \times \exp(-C \times DEPYR)$$

$$\text{Pyruvate--propionate (4) via succinate}$$

$$PYPRO = 100 \times k \times PYR \times ADP \times NADH^2 \times \exp(C \times DEPRO)$$

$$PROPY = (100 \times k / K_{eq4}) \times PRO \times ATP \times NAD^2 \times \exp(-C \times DEPRO)$$

$$\text{Pyruvate--acétate (5)}$$

$$PYAC = 10000 \times k \times PYR \times NAD \times ADP \times \exp(C \times DEACE)$$

$$ACPY = (10000 \times k / K_{eq5}) \times ACE \times NADH \times CO_2 \times ATP \times \exp(-C \times DEACE)$$

$$\text{Pyruvate--butyrate (6)}$$

$$PYBU = 1000 \times k \times PYR^2 \times ADP$$

$$BUPY = (1000 \times k / K_{eq6}) \times BUT \times ATP \times CO_2^2$$

$$\text{Pyruvate--valérate (7)}$$

$$PYVAL = k \times PYR^2 \times NADH^3 \times \exp(C \times DEVAL)$$

$$VALPY = (k / K_{eq7}) \times VAL \times CO_2 \times NAD^3 \times \exp(-C \times DEVAL)$$

COMPARTIMENT LACTATE : LAC

$$dLAC/dt = -LAPY + PYLA - LAPRO + PROLA - LACA + ALAC - OUTLAC$$

$$OUTLAC = KA2 \times LAC$$

$$\text{Lactate--propionate (3)}$$

$$LAPRO = k \times LAC \times NADH \times \exp(C \times DELAC)$$

$$PROLA = (k / K_{eq3}) \times PRO \times NAD \times \exp(-C \times DELAC)$$

$$\text{Formation acide lactique (12)}$$

$$LACA = ka \times LAC \times HPLUS$$

$$ALAC = (ka / K_{eq12}) \times ACL$$

COMPARTIMENT ACIDE LACTIQUE : ACL

$$dACL/dt = -ALAC + LACA - OUTACL$$

$$OUTACL = KA1 \times ACL$$

COMPARTIMENT PROPIONATE : PRO

$$dPRO/dt = LAPRO - PROLA + PYPRO - PROPY + APRO - PROA - OUTPRO$$

$$OUTPRO = KA2 \times PRO$$

Formation acide propionique (13)

$$\text{PROA} = k_a \times \text{PRO} \times \text{HPLUS}$$

$$\text{APRO} = (k_a / K_{eq13}) \times \text{ACP}$$

COMPARTIMENT ACIDE PROPIONIQUE : ACP

$$d\text{ACP}/dt = -\text{APRO} + \text{PROA} - \text{OUTACP}$$

$$\text{OUTACP} = K_{A1} \times \text{ACP}$$

COMPARTIMENT ACÉTATE : ACE

$$d\text{ACE}/dt = \text{PYAC} - \text{ACPY} + \text{COACE} - \text{ACECO} + \text{AACE} - \text{ACEA} - \text{OUTACE}$$

$$\text{OUTACE} = K_{A2} \times \text{ACE}$$

Formation acide acétique (14)

$$\text{ACEA} = k_a \times \text{ACE} \times \text{HPLUS}$$

$$\text{AACE} = (k_a / K_{eq14}) \times \text{ACA}$$

COMPARTIMENT ACIDE ACETIQUE : ACA

$$d\text{ACA}/dt = -\text{AACE} + \text{ACEA} - \text{OUTACA}$$

$$\text{OUTACA} = K_{A1} \times \text{ACA}$$

COMPARTIMENT BUTYRATE : BUT

$$d\text{BUT}/dt = \text{PYBU} - \text{BUPY} + \text{ABUT} - \text{BUTA} - \text{OUTBUT}$$

$$\text{OUTBUT} = K_{A2} \times \text{BUT}$$

Formation acide butyrique (15)

$$\text{BUTA} = k_a \times \text{BUT} \times \text{HPLUS}$$

$$\text{ABUT} = (k_a / K_{eq15}) \times \text{ACB}$$

COMPARTIMENT ACIDE BUTYRIQUE : ACB

$$d\text{ACB}/dt = -\text{ABUT} + \text{BUTA} - \text{OUTACB}$$

$$\text{OUTACB} = K_{A1} \times \text{ACB}$$

COMPARTIMENT VALÉRATE : VAL

$$d\text{VAL}/dt = \text{PYVAL} - \text{VALPY} + \text{AVAL} - \text{VALA} - \text{OUTVAL}$$

$$\text{OUTVAL} = K_{A2} \times \text{VAL}$$

Formation acide valérique (16)

$$\text{VALA} = k_a \times \text{VAL} \times \text{HPLUS}$$

$$\text{AVAL} = (k_a / K_{eq16}) \times \text{ACV}$$

COMPARTIMENT ACIDE VALERIQUE : ACV

$$d\text{ACV}/dt = -\text{AVAL} + \text{VALA} - \text{OUTACV}$$

$$\text{OUTACV} = K_{A1} \times \text{ACV}$$

COMPARTIMENT DIOXYDE DE CARBONE : CO2

$$d\text{CO}_2/dt = \text{PYAC} - \text{ACPY} + \text{CH}_4\text{CO} - \text{COCH}_4 + 2\text{ACECO} - 2\text{COACE} + \text{HCCO} - \text{COHC} + 2\text{PYBU} - 2\text{BUPY} + \text{PYVAL} - \text{VALPY} - \text{OUTCO}_2$$

$$\text{OUTCO}_2 = \text{CLIP}(\text{XCO}_2, 0, \text{PRES}, 1)$$

CO2--METHANE (8)

$$\text{COCH}_4 = 100 \times k \times \text{CO}_2 \times \text{NADH}^4 \times \text{ADP} \times \text{EXP}(C \times \text{DECO}_2\text{CH})$$

$$\text{CH}_4\text{CO} = (100 \times k / K_{eq8}) \times \text{CH}_4 \times \text{NAD}^4 \times \text{ATP} \times \text{EXP}(-C \times \text{DECO}_2\text{CH})$$

CO2--ACÉTATE (9)

$$\text{COACE} = k \times \text{CO}_2^2 \times \text{NADH}^4 \times \text{ADP}^{0.25} \times \text{EXP}(C \times \text{DECO}_2\text{AC})$$

$$\text{ACECO} = (k / K_{eq9}) \times \text{ACE} \times \text{NAD}^4 \times \text{ATP}^{0.25} \times \text{EXP}(-C \times \text{DECO}_2\text{AC})$$

Dissociation et relation CO2--HCO3 (11)

$$\text{HCCO} = k \times \text{HCO}_3 \times \text{HPLUS}$$

$$\text{COHC} = (k / K_{eq11}) \times \text{CO}_2$$

COMPARTIMENT METHANE : CH4

$$d\text{CH}_4/dt = \text{COCH}_4 - \text{CH}_4\text{CO} - \text{OUTCH}_4$$

$$\text{OUTCH}_4 = \text{CLIP}(\text{XCH}_4, 0, \text{PRES}, 1)$$

COMPARTIMENT HYDROGENE : H2

$$dH2/dt = HPH2 - H2HP - OUTH2$$

$$OUTH2 = CLIP(0,0,PRES,1)$$

$$H2 \rightarrow H^+ (10)$$

$$H2HP = k \times H2 \times NAD \times \exp(-C \times DEH)$$

$$HPH2 = (k / Keq10) \times HPLUS \times NADH \times \exp(-C \times DEH)$$

COMPARTIMENT IONS BICARBONATE : HCO3

$$dHCO3/dt = SALHCO3 + COHC - HCCO$$

$$SALHCO3 = 0.5E-4$$

Flux salivaire d'ions bicarbonate

COMPARTIMENT IONS H⁺ : HPLUS

$$dHPLUS/dt = H2HP - HPH2 + AACE - ACEA + APRO - PROA + ALAC - LACA + ABUT - BUTA + COHC - HCCO$$

$$+ AVAL - VALA$$

COUPLE NADH/NAD

$$dNADH/dt = NNH - NHN$$

$$dNAD/dt = NHN - NNH$$

$$NNH = 2GLPY + LAPY + 2PROPY + PYAC + PROLA + H2HP + 4CH4CO + 4ACECO + 3VALPY$$

$$NHN = 2PYGL + PYLA + 2PYPRO + ACPY + LAPRO + HPH2 + 4COCH4 + 4COACE + 3PYVAL + NADHMM + BESNADHM$$

COUPLE ATP/ADP

$$dATP/dt = ADTP - ATDP$$

$$ADTP = 2GLPY + PYAC + COCH4 + 0.25COACE + PYBU + PYPRO$$

$$ATDP = 2PYGL + ACPY + CH4CO + 0.25ACECO + BUPY + PROPY + BESATPM + ATPMM / (1 + (0.5E-3 / ATP))$$

$$dADP/dt = ATDP - ADTP$$

COMPARTIMENT MICROBIEN

$$dMSM/dt = CRMSM - LYSMSM - OUTMSM$$

$$OUTMSM = KM \times MSM$$

$$CRMSM = MUBAS \times MSM \times \exp(KMU \times (RATDP - 1))$$

$$LYSMSM = MUBAS \times MSM \times \exp(-KMU \times (RATDP - 1))$$

$$BCRMSM = CRMSM - LYSMSM$$

$$SCRMSM = RAMP(BCRMSM, 0)$$

$$MUAMSM = 60 \times BCRMSM / MSM$$

$$MURMSM = 60 \times CRMSM / MSM$$

$$UTCM = CRMSM / 25$$

Croissance apparente

Taux de croissance apparent en h⁻¹Taux de croissance réel en h⁻¹

mol C utilisées en croissance

Flux d'utilisation de l'ATP par les micro-organismes

$$ATPMM = 0.001 \times 1.6 \times MSM / 60$$

$$BESATPM = CRMSM / 30$$

Entretien

Croissance

Sortie de C pour la croissance des micro-organismes

$$PYMIC = BCRMSM / 25$$

mol C de pyruvate utilisées

Flux d'utilisation de NADH par les micro-organismes

$$NADHMM = 1E-5 \times MSM$$

$$BESNADHM = 0.5 \times UTCM$$

Entretien

Croissance

VARIABLES AUXILIAIRES

RAPPORT NADH/NAD, ATP/ADP

$$RNHN = NADH / NAD$$

$$RATDP = ATP / ADP$$

CALCUL DU PH

$$PH = -\log(HPLUS)$$

$$PHAGV = 6.96 - 6.94 \times SOMAGV$$

Calcul du pH de façon mécaniste

Calcul du pH de façon empirique en utilisant [AGV]

$\text{PHCO}_3 = \text{pK}_{\text{hco}} + \text{Log}(\text{HCO}_3/\text{CO}_2)$
 $\text{PHACE} = \text{pK}_{\text{ace}} + \text{Log}(\text{ACE}/\text{ACA})$
 $\text{PHPRO} = \text{pK}_{\text{pro}} + \text{Log}(\text{PRO}/\text{ACP})$
 $\text{PHBUT} = \text{pK}_{\text{but}} + \text{Log}(\text{BUT}/\text{ACB})$
 $\text{PHLAC} = \text{pK}_{\text{lac}} + \text{Log}(\text{LAC}/\text{ACL})$
 $\text{PHVAL} = \text{pK}_{\text{val}} + \text{Log}(\text{VAL}/\text{ACV})$

Calcul pour chaque acide en utilisant le pKa

PRESSIONS DES GAZ

$\text{PRES} = \text{CH}_4 + \text{CO}_2 + \text{H}_2$

Pression totale dans le rumen

$\text{XCH}_4 = \text{CH}_4/\text{PRES}$

Pressions partielles

$\text{XCO}_2 = \text{CO}_2/\text{PRES}$

$\text{XH}_2 = \text{H}_2/\text{PRES}$

PROPORTIONS MOLAIRES DES AGV

$\text{SOMAGV} = \text{ACE} + \text{ACA} + \text{PRO} + \text{ACP} + \text{BUT} + \text{ACB} + \text{VAL} + \text{ACV}$

Somme totale des AGV

$\text{PACE} = 100 \times (\text{ACE} + \text{ACA})/\text{SOMAGV}$

Proportions respectives de chaque AGV

$\text{PPRO} = 100 \times (\text{ACP} + \text{PRO})/\text{SOMAGV}$

$\text{PBUT} = 100 \times (\text{ACB} + \text{BUT})/\text{SOMAGV}$

$\text{PVAL} = 100 \times (\text{ACV} + \text{VAL})/\text{SOMAGV}$

$\text{ACESPRO} = (\text{ACE} + \text{ACA})/(\text{PRO} + \text{ACP})$

Rapport Acetate /Propionate

CALCUL DES VARIABLES THERMODYNAMIQUES

Potentiels d'oxydo-réduction standards des couples au pH du rumen

$\text{EvOpHN} = \text{EvON} - (RT/(2F)) \times \text{Ln}(10) \times \text{PH}$

$\text{EvOpHG} = \text{EvOG} - (6RT/(8F)) \times \text{Ln}(10) \times \text{PH}$

$\text{EvOpHP} = \text{EvOP} - (RT/F) \times \text{Ln}(10) \times \text{PH}$

$\text{EvOpHL} = \text{EvOL} - (RT/F) \times \text{Ln}(10) \times \text{PH}$

$\text{EvOpHPP} = \text{EvOPP} - (RT/F) \times \text{Ln}(10) \times \text{PH}$

$\text{EvOpHA} = \text{EvOA} - (RT/F) \times \text{Ln}(10) \times \text{PH}$

$\text{EvOpHH} = \text{EvOH} - (RT/F) \times \text{Ln}(10) \times \text{PH}$

$\text{EvOpHCch} = \text{EvOCO}_2\text{ch} - (RT/F) \times \text{Ln}(10) \times \text{PH}$

$\text{EvOpHCac} = \text{EvOCO}_2\text{ac} - (7RT/(8F)) \times \text{Ln}(10) \times \text{PH}$

$\text{EvOpHV} = \text{EvOV} - (7RT/(6F)) \times \text{Ln}(10) \times \text{PH}$

Potentiels standards des réactions au pH du rumen

$\text{EvOpHr1} = \text{EvOpHN} - \text{EvOpHG}$

$\text{EvOpHr2} = \text{EvOpHP} - \text{EvOpHN}$

$\text{EvOpHr3} = \text{EvOpHL} - \text{EvOpHN}$

$\text{EvOpHr4} = \text{EvOpHPP} - \text{EvOpHN}$

$\text{EvOpHr5} = \text{EvOpHN} - \text{EvOpHA}$

$\text{EvOpHr7} = \text{EvOpHV} - \text{EvOpHN}$

$\text{EvOpHr8} = \text{EvOpHCch} - \text{EvOpHN}$

$\text{EvOpHr9} = \text{EvOpHCac} - \text{EvOpHN}$

$\text{EvOpHr10} = \text{EvOpHH} - \text{EvOpHN}$

Energie de Gibbs des réactions (sans couplage ATP) dans les conditions standards

$\text{GOpHr1} = -4F \times \text{EvOpHr1}$

$\text{GOpHr2} = -2F \times \text{EvOpHr2}$

$\text{GOpHr3} = -2F \times \text{EvOpHr3}$

$\text{GOpHr4} = -4F \times \text{EvOpHr4}$

$\text{GOpHr5} = -2F \times \text{EvOpHr5}$

$\text{GOpHr6} = -177.7 + RT \times \text{Ln}(10) \times \text{PH}$

$\text{GOpHr7} = -6F \times \text{EvOpHr7}$

$\text{GOpHr8} = -8F \times \text{EvOpHr8}$

$\text{GOpHr9} = -8F \times \text{EvOpHr9}$

$\text{GOpHr10} = -2F \times \text{EvOpHr10}$

Energie de Gibbs pour la formation d'ATP dans les conditions standards

$\text{G0ATPpH} = \text{G0ATP} + RT \times \text{Ln}(10) \times \text{PH}$

Energie de Gibbs des réactions dans les conditions du modèle

$$\begin{aligned}
Gr1 &= G0pHr1 + 2G0ATPpH + RT \times \ln(((PYR^2) \times (NADH^2) \times (ATP^2)) / (GLU \times (NAD^2) \times (ADP^2))) \\
Gr2 &= G0pHr2 + RT \times \ln((LAC \times NAD) / (PYR \times NADH)) \\
Gr3 &= G0pHr3 + RT \times \ln((PRO \times NAD) / (LAC \times NADH)) \\
Gr4 &= G0pHr4 + G0ATPpH + RT \times \ln((PRO \times ATP \times (NAD^2)) / (PYR \times ADP \times (NADH^2))) \\
Gr5 &= G0pHr5 + G0ATPpH + RT \times \ln((ACE \times NADH \times CO2 \times ATP) / (PYR \times NAD \times ADP)) \\
Gr6 &= G0pHr6 + G0ATPpH + RT \times \ln((BUT \times ATP \times (CO2^2)) / ((PYR^2) \times ADP)) \\
Gr7 &= G0pHr7 + RT \times \ln((VAL \times CO2 \times (NAD^3)) / ((PYR^2) \times (NADH^3))) \\
Gr8 &= G0pHr8 + G0ATPpH + RT \times \ln((CH4 \times (NAD^4) \times ATP) / (CO2 \times (NADH^4) \times ADP)) \\
Gr9 &= G0pHr9 + 0.25G0ATPpH + RT \times \ln((ACE \times (NAD^4) \times (ATP^{0.25})) / ((CO2^2) \times (NADH^4) \times (ADP^{0.25}))) \\
Gr10 &= G0pHr10 + RT \times \ln((H2 \times NAD) / NADH) \\
Gr11 &= RT \times \ln((CO2 / HCO3) / Keq11) \\
Gr12 &= RT \times \ln((ACL / LAC) / Keq12) \\
Gr13 &= RT \times \ln((ACP / PRO) / Keq13) \\
Gr14 &= RT \times \ln((ACA / ACE) / Keq14) \\
Gr15 &= RT \times \ln((ACB / BUT) / Keq15) \\
Gr16 &= RT \times \ln((ACV / VAL) / Keq16)
\end{aligned}$$

Constantes d'équilibre des réactions

$$\begin{aligned}
Keq1 &= \exp(-(G0pHr1 + 2G0ATPpH) / RT) \\
Keq2 &= \exp(Ev0pHr2 / (RT/2F)) \\
Keq3 &= \exp(Ev0pHr3 / (RT/2F)) \\
Keq4 &= \exp(-(G0pHr4 + G0ATPpH) / RT) \\
Keq5 &= \exp(-(G0pHr5 + G0ATPpH) / RT) \\
Keq6 &= \exp(-(G0pHr6 + G0ATPpH) / RT) \\
Keq7 &= \exp(-G0pHr7 / RT) \\
Keq8 &= \exp(-(G0pHr8 + G0ATPpH) / RT) \\
Keq9 &= \exp(-(G0pHr9 + 0.25G0ATPpH) / RT) \\
Keq10 &= \exp((EvOH - EvON) / (RT/2F)) \\
Keq11 &= 1/10^{-pK_{hco}} \\
Keq12 &= 1/10^{-pK_{lac}} \\
Keq13 &= 1/10^{-pK_{pro}} \\
Keq14 &= 1/10^{-pK_{ace}} \\
Keq15 &= 1/10^{-pK_{but}} \\
Keq16 &= 1/10^{-pK_{val}}
\end{aligned}$$

Valeurs des potentiels des couples d'oxydo-réduction

$$\begin{aligned}
ENAD &= Ev0pHN + (RT/2F) \times \ln(NAD/NADH) \\
EGLU &= Ev0pHG + (RT/4F) \times \ln((PYR^2)/(GLU)) \\
EPYR &= Ev0pHP + (RT/2F) \times \ln(PYR/LAC) \\
ELAC &= Ev0pHL + (RT/2F) \times \ln(LAC/PRO) \\
EPRO &= Ev0pHPP + (RT/(4F)) \times \ln(PYR/PRO) \\
EACE &= Ev0pHA + (RT/2F) \times \ln((ACE \times CO2)/PYR) \\
EH &= Ev0pHH + (RT/2F) \times \ln(1/H2) \\
ECO2ch &= Ev0pHCch + (RT/8F) \times \ln(CO2/CH4) \\
ECO2ac &= Ev0pHCac + (RT/8F) \times \ln(CO2^2/ACE) \\
EVAL &= Ev0pHV + (RT/6F) \times \ln((PYR^2)/(VAL \times CO2))
\end{aligned}$$

Détermination du potentiel d'oxydo-réduction moyen du rumen

$$\begin{aligned}
SOMOL &= GLU + PYR + LAC + PRO + ACE + VAL + NAD + NADH + H2M + HPLUS + CO2M + CH4M \\
H2M &= 0.0008143 \times H2 && \text{Concentrations des gaz déterminées grâce à la constante de Henry} \\
CO2M &= 0.0229 \times CO2 \\
CH4M &= 2E-5 \times CH4 \\
PROPNAD &= (NAD + NADH) / SOMOL && \text{Calcul des pondérations pour chaque couple redox} \\
PROGLPY &= (GLU + (2/7)PYR) / SOMOL \\
PROPPYLA &= ((1/7)PYR + (1/2)LAC) / SOMOL \\
PROPLAPRO &= ((1/2)LAC + (1/2)PRO) / SOMOL \\
PROPPROPY &= ((1/2)PRO + (1/7)PYR) / SOMOL \\
PROPPYAC &= ((1/7)PYR + (1/2)ACE + (1/5)CO2M) / SOMOL \\
PROPHPH2 &= (HPLUS + H2M) / SOMOL \\
PROPCOCH4 &= ((1/5)CO2M + CH4M) / SOMOL \\
PROPCOAC &= ((2/5)CO2M + (1/2)ACE) / SOMOL \\
PROPPYVAL &= ((2/7)PYR + VAL + (1/5)CO2M) / SOMOL
\end{aligned}$$

$EPMOY = (ENAD \times PROPAD) + (EGLU \times PROPGLPY) + (EPYR \times PROPPYLA) + (ELAC \times PROPLAPRO) +$
 $(EPRO \times PROPPROPY) + (EACE \times PROPPYAC) + (EH \times PROPHPH2) + (ECO2ch \times PROPCOCH4) + (ECO2ac$
 $\times PROPCOAC) + (EVAL \times PROPPYVAL)$

Ecart au potentiel moyen

$DEGLU = EPMOY - EGLU$
 $DEPYR = EPYR - EPMOY$
 $DELAC = ELAC - EPMOY$
 $DEPRO = EPRO - EPMOY$
 $DEACE = EPMOY - EACE$
 $DEH = EH - EPMOY$
 $DECO2CH = ECO2CH - EPMOY$
 $DECO2AC = ECO2AC - EPMOY$
 $DEVAL = EVAL - EPMOY$

Potentiels des réactions d'oxydo-réduction

$Evr1 = ENAD - EGLU$
 $Evr2 = EPYR - ENAD$
 $Evr3 = ELAC - ENAD$
 $Evr4 = EPRO - ENAD$
 $Evr5 = ENAD - EACE$
 $Evr7 = EVAL - ENAD$
 $Evr8 = ECO2ch - ENAD$
 $Evr9 = ECO2ac - ENAD$
 $Evr10 = EH - ENAD$

Annexe 5

Posters

- Offner, A., Sauvant, D., van Eys, J., Bach, A.,** 2001. Prédiction de la digestion de l'amidon dans le rumen à partir des données *in sacco*. 8^{ème} Renc. Rech. Ruminants, Paris, 5-6 décembre 2001, p. 313.
- Offner, A., Bach, A., Sauvant, D.,** 2002. Influence of grain density on rumen and digestive characteristics. J. Anim. Sci. 80, suppl. 1 / J. Dairy Sci. 85, suppl. 1, p. 398.
- Offner, A., Sauvant, D.,** 2002. Digestive interactions: responses to some variations of the amount of starch digestible in the rumen. Book of abstracts of the 53rd Annual Meeting of the EAAP n° 8. Cairo, Egypt, 1-4 September 2002, p. 57.
- Offner, A., Chapoutot, P., Sauvant, D.,** 2002. Comparaison de trois modèles du rumen sur leur aptitude à prédire la digestion des glucides pariétaux et amylacés. 9^{ème} Renc. Rech. Ruminants, Paris, 4-5 décembre 2002, p. 336.
- Offner, A., Sauvant, D.,** 2003. Modélisation thermodynamique du métabolisme microbien dans le rumen. Renc. Microbiologistes INRA, Dourdan, 5-7 mai 2003.
- Offner, A., Sauvant, D.,** 2003. Contribution of ruminally degraded starch to the prediction of fermentable organic matter for ruminants. J. Anim. Sci. 81, suppl. 1 / J. Dairy Sci. 86, suppl. 1, p. 267.

Introduction

Fig. 1	Evolution de la consommation d'aliments composés chez les vaches laitières.	2
Fig. 2	Evolution génétique, phénotypique et de milieu en race prim'holstein.	3
Fig. 3	Niveaux d'étude abordés au cours du travail de thèse.	4

Partie I

Fig. 1	Evolution et développement des principaux systèmes d'évaluation des aliments et des besoins des ruminants.	7
Fig. 2	Evolution du nombre de publications concernant la modélisation du rumen.	8
Fig. 3	Evolution du nombre de variables d'état représentées dans les modèles du rumen.	9
Fig. 4	Etapas de la démarche appliquée pour comparer les modèles du rumen.	16

Article: Comparative evaluation of three rumen models

Fig. 1	Within experiment comparison of experimental and simulated starch digestibility in the rumen by the LES model of Lescoat and Sauvant (1995).	29
Fig. 2	Modelisation of pH negative influence on fiber degradation rates with the three models (LES, MOL, CNCPS).	29
Fig. 3	Within experiment comparison of experimental and simulated fiber digestibility in the rumen by Molly model (Baldwin et al., 1999).	31
Fig. 4	Within experiment comparison of experimental and simulated fluxes of microbial protein by the CNCPS (Fox et al., 2000).	32
Fig. 5	Within experiment comparison of experimental and simulated efficiency of microbial growth by the CNCPS (Fox et al., 2000).	33
Fig. 6	Within experiment comparison of experimental and simulated volatile fatty acids concentration by the LES model of Lescoat and Sauvant (1995).	34
Fig. 7	Within experiment comparison of experimental and simulated rumen pH by the LES model of Lescoat and Sauvant (1995).	35

Partie II**Article: Quantitative review of *in situ* starch degradation in the rumen**

Fig. 1	Contents of ruminally degraded and undegraded starch.	59
Fig. 2	Within experiments influence of temperature on starch effective degradability for cereals (wheat, barley) and legume plants (pea, bean).	60
Fig. 3	Within experiments influence of feed mean particle size on starch effective degradability.	61

Article: Prediction of *in vivo* starch digestion in cattle from *in situ* data

Fig. 1	Within experiments regression between <i>in vivo</i> starch digestibility in the rumen and <i>in situ</i> predicted values.	73
Fig. 2	Relationship between <i>in vivo</i> and <i>in situ</i> starch digestibility for experiments comparing two starch types.	74
Fig. 3	Relationship between the residuals of equation (4) $R_d = 0.302 + 0.59 \times ED$ and DM intake.	75

Fig. 4	Relationship between the residuals of equation (6) $R_d = 0.439 + 0.68 \times ED - 0.083 \times DMI$ and diet mean particle size.	76
Fig. 5	Within experiments prediction of starch digestibility in the intestine (I_d , kg/kg rumen escape starch) and in the small intestine (SId , kg/kg rumen escape starch) from rumen escape starch.	77
Fig. 6	Partitioning of starch digestibility between small (SI) and large intestine (LI).	79
Fig. 7	Global evaluation of faecal starch from equations predicting starch digestibility in the rumen (eq. 6), in the small intestine (eq. 11) and average digestibility in the large intestine.	80

Intégration des flux d'amidon dans les systèmes d'alimentation

Fig. 1	Relation entre les teneurs en amidon et NFC pour les concentrés.	87
Fig. 2	Estimation de NFC, exprimé en % MS, avec trois systèmes d'évaluation des aliments.	88
Fig. 3	Relation entre la fraction CB1 du modèle CNCPS et les teneurs en amidon (INRA).	88
Fig. 4	Estimation de la fraction digestible de NFC (<i>Non Fiber Carbohydrate</i>), exprimée en % MS, avec trois systèmes d'évaluation des aliments (CNCPS, INRA, NRC).	89
Fig. 5	Relation entre les quantités de matière organique réellement fermentée (MOFr) observées et prédites par le CNCPS.	91
Fig. 6	Relation entre les quantités de matière organique réellement fermentée (MOFr) observées et prédites par l'INRA.	91
Fig. 7	Relation intra-essai entre la matière organique fermentée et l'amidon dégradable dans le rumen.	92

Effets des traitements technologiques sur l'utilisation de l'amidon

Fig. 1	Influence intra-essai de la densité sur la digestibilité de l'amidon au niveau du rumen.	95
Fig. 2	Influence intra-essai de la densité sur la synthèse de protéines microbiennes.	95

Conséquences digestives des variations des teneurs en amidon dégradable dans le rumen

Fig. 1	Influence intra-essai de la teneur en amidon dégradable sur la digestibilité des fibres.	97
Fig. 2	Digestibilité des fibres au niveau intestinal et ruminal: mise en évidence d'un phénomène compensatoire dans la partie distale du tube digestif.	97
Fig. 3	Influence intra-essai de la teneur en amidon dégradable sur le rapport acétate sur propionate dans le rumen.	98
Fig. 4	Influence intra-essai de MOF sur la synthèse de protéines microbiennes.	98

Propositions pour le développement d'un modèle mécaniste de la digestion de l'amidon

Fig. 1	Structure d'un modèle mécaniste de la digestion de l'amidon chez les ruminants.	100
--------	---	-----

Partie IIIArticle: Thermodynamic modeling of ruminal fermentations

Fig. 1	Simplified Forrester diagram to model fermentation pathways in the rumen.	109
Fig. 2	Change in Gibbs energy ($\Delta_r G$) for various key reactions in the rumen.	114
Fig. 3	Degradation kinetics of cell wall and starch in the rumen.	115
Fig. 4	Evolution of acetate, propionate and butyrate proportions.	116
Fig. 5	Comparison between simulated pH and empirical pH determination from VFA concentration in the rumen.	116
Fig. 6	VFA sensitivity to initial ATP/ADP ratio.	117
Fig. 7	Simulated fluxes of acetogenesis and methanogenesis.	118

Etude expérimentale des effets du pH, de E_v et de H_2 sur l'activité fermentaire des microorganismes du rumen

Fig. 1	Principe du fermenteur continu à effluent double.	126
Fig. 2	Principe des incubations en mini-fermenteur.	130
Fig. 3	Modèles d'ajustement de la production d'hexoses fermentés et des productions relatives d'acides gras volatils.	134
Fig. 4	Effet de substitution entre méthane et hydrogène.	135
Fig. 5	Influence du mode d'expression de la production de propionate.	136
Fig. 6	Relation entre la concentration de propionate et le potentiel d'oxydo-réduction dans les inoculums au temps zéro.	136
Fig. 7	Relation entre la quantité d'hexoses fermentés et le nombre moyen de C dans les chaînes carbonées formées.	138
Fig. 8	Influence du potentiel d'oxydo-réduction sur le nombre moyen de C dans les chaînes carbonées formées.	139

Discussion générale

Fig. 1	Conséquences métaboliques de l'apport d'amidon lent par comparaison à l'apport d'amidon rapide.	149
Fig. 2	Relations entre la dégradabilité théorique (DT) de l'amidon <i>in sacco</i> et sa digestibilité ruminale (Rd) <i>in vivo</i> .	151
Fig. 3	Relations de prédiction de la dégradabilité de l'amidon au niveau de l'intestin grêle.	153
Fig. 4	Principe du modèle empirique de prédiction des flux digestifs d'amidon: paramètres et équations.	154

Partie I

Tableau 1	Synthèse comparative de 6 modèles du rumen	11-15
-----------	--	-------

Article: Comparative evaluation of three rumen models

Table 1	List of references used in the comparison database and experimental parameters	22
Table 2	Main characteristics of the comparison database	23
Table 3	Feed components needed to run the three models	24
Table 4	Animal and management characteristics needed to run the models	26
Table 5	Global and "within experiments" analyses of the prediction of various outputs by the three models	27

Partie II**Article: Quantitative review of *in situ* starch degradation in the rumen**

Table 1	Values of parameters a, c and ED for starch of various feedstuffs	56-57
Table 2	Mean starch content (g/kg DM) for various feedstuffs	58
Table 3	Mean effect of treatment on starch effective degradability (kg/kg starch) for three groups of raw materials	60

Article: Prediction of *in vivo* starch digestion in cattle from *in situ* data

Table 1	Global regressions and within experiments models predicting <i>in vivo</i> starch digestibility in the rumen (Rd, kg/kg starch) from <i>in situ</i> degradability (ED, kg/kg starch)	72
Table 2	Correlations with the residuals of equation (6) predicting starch digestibility in the rumen: $0.439 + 0.68 \times ED - 0.083 \times DMI$	76
Table 3	Partitioning of starch digestion in the digestive tract	77

Effets des traitements technologiques sur l'utilisation de l'amidon

Tableau 1	Influence des traitements sur la dégradabilité théorique de l'amidon <i>in sacco</i>	94
-----------	--	----

Propositions pour le développement d'un modèle mécaniste de la digestion de l'amidon

Tableau 1	Constantes utilisées dans le modèle	101
Tableau 2	Paramètres variables du modèle	101

Partie III**Article: Thermodynamic modeling of ruminal fermentations**

Table 1	Thermodynamic properties for compounds of ruminal metabolism: standard Gibbs energy and enthalpy of formation. $\Delta_f G^\circ$ and $\Delta_f H^\circ$ expressed in kJ/mol, pH = 0	112
Table 2	Change in standard Gibbs energy for key reactions in the rumen, expressed in kJ/mol for various conditions of pH and temperature	113

Table 3	Redox potentials at pH = 0 and at pH = 7 and T = 311K	114
---------	---	-----

Etude expérimentale des effets du pH, de Ev et de H₂ sur l'activité fermentaire des microorganismes du rumen

Tableau 1	Caractéristiques des rations expérimentales	127
Tableau 2	Limites du domaine expérimental et codage des facteurs étudiés pour les incubations en mini-fermenteurs	129
Tableau 3	Matrice d'expérience des incubations en mini-fermenteurs	129
Tableau 4	Modèles d'ajustement de la fermentation des hexoses (mmoles/l) et des productions relatives (moles/ 100 moles de HF) d'AGV et de gaz	134
Tableau 5	Quantités produites en 6h (moles/ mole de nucléobases) pour l'inoculum Blé NDF H	140
Tableau 6	Quantités produites en moles pour 100 moles d'hexoses fermentés (Blé NDF H)	140
Tableau 7	Quantités produites en 6h (moles/ mole de nucléobases) pour l'inoculum Blé NDF B	141
Tableau 8	Quantités produites en moles pour 100 moles d'hexoses fermentés (Blé NDF B)	141
Tableau 9	Quantités produites en 6h (moles/ mole de nucléobases) pour l'inoculum Maïs NDF B	141
Tableau 10	Quantités produites en moles pour 100 moles d'hexoses fermentés (Maïs NDF B)	142

Discussion générale

Tableau 1	Relations "intra-essais" de prédiction de la digestibilité ruminale de l'amidon à partir de la dégradabilité théorique <i>in sacco</i>	150
-----------	--	-----

ADL	<i>acid detergent lignin</i>	% MS
ADR	amidon dégradable dans le rumen	% MS
AGV	acides gras volatils	mM
AMND	amidon non dégradable	% MS
dAM	digestibilité de l'amidon (ensemble du tube digestif)	%
dMO	digestibilité de la matière organique (ensemble du tube digestif)	%
drAM	digestibilité ruminale de l'amidon	%
drNDF	digestibilité ruminale du NDF	%
DT	dégradabilité théorique <i>in sacco</i>	%
<i>etr</i>	écart-type résiduel	
MAD	matières azotées dégradables	% MS
MAND	matières azotées non dégradables	% MS
MAT	matières azotées totales	% MS
MCP	protéines microbiennes synthétisées	% MS
ME	énergie métabolisable	
MG	matières grasses brutes	% MS
MM	matières minérales	% MS
MOD	matière organique digestible	% MS
MODRv	matière organique réellement fermentée dans le rumen	% MS
MOF	matière organique fermentescible	% MS
MS	matière sèche	
MSI	matière sèche ingérée	kg/d
NDF	<i>neutral detergent fiber</i>	% MS
NDFd	fraction NDF digestible	
NFC	<i>non fiber carbohydrate</i>	% MS
NFCd	fraction NFC digestible	% MS
PDI	protéines digestibles dans l'intestin	
PF	produits de fermentation des ensilages	% MS
PV	poids vif	kg

Résumé

Les réponses nutritionnelles et zootechniques des ruminants aux variations de régime sont largement conditionnées par leurs effets au niveau du rumen. L'objectif de ce travail était d'apporter de nouvelles perspectives pour progresser dans la démarche de modélisation de cet organe, qui a débuté dans les années 1970. Pour l'aborder, nous avons privilégié une approche par modélisation systémique à différents niveaux organisationnels : de l'organe, aux flux de nutriments et jusqu'aux mécanismes de régulation cellulaire.

La première partie du travail était consacrée à une étude comparative des modèles actuels. Peu de validations comparées des modèles avaient été entreprises jusqu'à présent. Les résultats rendent compte des principes communs appliqués mais aussi des spécificités de chacun des modèles. Leur plus grande faiblesse réside dans leur incapacité à prédire de façon satisfaisante les équilibres des produits terminaux des fermentations (acides gras volatils, gaz et matières microbiennes). Pour progresser dans ce domaine, nous avons exploré deux voies. La première concerne la représentation de la digestion de l'amidon, substrat glucidique expliquant la majeure partie des variations de la vitesse de digestibilité ruminale des rations. Nous avons développé un modèle de prédiction des flux d'amidon pour mieux quantifier et expliquer les variations observées. Cette étude a été réalisée à partir de bases de données quantitatives portant sur ces flux mesurés *in sacco* et *in vivo*. Les résultats obtenus expliquent assez précisément les variations observées intra-essai. Par contre, les variations inter-essais demeurent importantes et difficiles à apprécier. La seconde voie est basée sur l'application des lois de la thermodynamique au métabolisme microbien. L'objectif est d'améliorer la prédiction des produits terminaux des fermentations. Cette approche originale des aspects fermentaires a comporté un volet modélisation et un volet expérimental. Les résultats permettent de dégager certaines propriétés comme résultant des principes de la thermodynamique et nous confortent dans l'intérêt de cette approche.

Ce travail de thèse contribue aux avancées en matière de modélisation du rumen, notamment pour la modélisation des flux d'amidon. Il propose aussi de nouveaux champs de recherche encore peu explorés.

Mots clés: modèle, rumen, amidon, thermodynamique.

Abstract

Nutritional and zootechnical responses of ruminants to diets largely depend on responses at the rumen level. The objective of this study was to bring new prospects to progress in rumen modeling, pioneered in the early seventies. To tackle this work, we decided to favor a systemic modeling approach based on various organizational levels: from organs to nutrients flows and down to mechanisms of cellular regulation.

The first part of this study was devoted to compare current rumen models. Indeed, few comparative validations had been undertaken until now. The results pointed out that models share common principles but have also their own characteristics. Their main weakness was their inability to predict the end-products of fermentation (volatile fatty acids, gas, microbial matter) in a satisfactory way. We investigated two directions to progress in this area. The first one deals with the representation of starch digestion; this carbohydrate substrate explains the most variation in ruminal digestion rates of a diet. We developed a model predicting starch flows to better quantify and explain observed variation. This study was conducted from quantitative databases related to *in situ* and *in vivo* flows. Results for variation within experiments were entirely satisfactory. However, variation among experiments remained large and was difficult to explain. The second direction was based on the application of thermodynamic laws to microbial metabolism. The objective was to improve the prediction of end-products of fermentation. This original approach of fermentation includes both modeling and experimental work. Results allowed some properties resulting from thermodynamic principles to be identified and strengthened interest in the subject.

This work has contributed to some progress on rumen modeling, especially on the modeling of starch flows. It also opens a promising new field of knowledge that deserves further attention.

Keywords: model, rumen, starch, and thermodynamics.