Apport de la titrimétrie à la connaissance du milieu ruminal

H. BRUGÈRE, Fabienne NICOLAS, H. LE BARS

*Chaire de Physiologie thérapeutique, Ecole Nationale Vétérinaire,
94704 Maisons Alfort Cedex, France.*

Summary. Titration of rumen fluid between pH = 1 and pH = 12 is able to reveal the main indicators of digestion in the rumen (AGV, lactate, bicarbonate and ammonia) and allows an estimate of their concentrations.

La titration de la phase liquide du contenu ruminal a été pratiquée par divers expérimentateurs pour évaluer la régulation acido-basique de ce milieu et ses modifications sous l'influence de facteurs tels que l'alimentation. La titration permet alors d'évaluer le « pouvoir tampon », selon des modalités de réalisation aussi variées que les expériences réalisées en ce domaine (cf. revue de Brugère, 1984). L'objectif de notre travail était de montrer que la titrimétrie permet d'obtenir une vue d'ensemble des phénomènes caractéristiques de l'activité fermentative du rumen.

Matériel et méthodes. Le principe de l'évaluation du pouvoir tampon consiste à étudier le paramètre $\beta = d\text{H}^+ / d\text{pH}$ (Van Slyke, 1922), où $d\text{H}^+$ représente le nombre de moles d' H^+ ajoutées ou retirées lors de la titration et $d\text{pH}$ la variation du pH qui en a résulté. Les valeurs de β peuvent être portées en ordonnées sur un graphique où les valeurs de pH sont figurées en abscisses. La courbe obtenue (courbe dérivée première de la courbe de titration) présente des pics dans les régions de forte activité tampon.

Les échantillons de jus de rumen ont été prélevés sur 6 moutons adultes fistulisés recevant un régime de foin de graminées. Deux fractions du liquide obtenu après filtration sont titrées successivement par l'acide chlorhydrique et par la soude. Le dispositif expérimental regroupe une cellule de titrage, un pHmètre et un injecteur automatique. Un microordinateur commande les séquences d'injection des solutions titrantes et effectue les calculs numériques. Plusieurs modifications typiques de l'activité du rumen ont été pratiquées : privation alimentaire, acidose par apport de saccharose, intoxication par l'urée. Fortuitement, alors que les animaux recevaient de la luzerne, un cas de météorisation spumeuse a pu être observé.

Résultats et discussion.

A l'état normal (fig. 1a), les courbes présentent un pic dont le sommet est situé dans la zone 4,5 à 5 (pK_A de l'acétate : 4,75). L'amplitude de ce pic est très variable selon les échantillons et témoigne d'activités microbiennes très différentes, en particulier selon le moment où le prélèvement est fait par rapport au repas. Comparées à une gamme de solutions d'acétate de concentrations connues, ces courbes indiquent des valeurs d'environ 100 à 150 mMol d'acétate par litre. La

courbe obtenue avec le liquide prélevé *lors d'une météorisation* (fig. 1a) présente un pic dont le sommet occupe la même position vis-à-vis de l'échelle des pH. Son amplitude indique une concentration de l'ordre de 250-300 mM/L.

La privation alimentaire modifie le milieu ruminal ; les acides gras volatils (AGV) disparaissent, alors que l'apport salivaire permet une accumulation des bicarbonates. La courbe $\beta = f/\text{pH}$, obtenue après 48 h de jeûne présente un pic dans la zone pH 6-6,5 (pK_{A1} de l'acide carbonique = 6,25). Un second pic est observée dans la région de pH 10 (pK_{A2} de l'acide carbonique = 10,25) (fig. 1a).

Après induction d'une *acidose lactique* par ingestion de saccharose (10 g/kg), la courbe présente un pic situé en zone plus acide qu'à l'état normal (fig. 1b) : le maximum correspond à pH 3,5-4 (pK_A du lactate : 3,86). Comparée à une gamme de solutions connues de lactate de sodium, l'amplitude indique une concentration d'environ 100 mM/L.

FIG. 1. — Courbes de pouvoir tampon établies sur des échantillons de jus de rumen recueillis dans différentes situations. Les valeurs numériques indiquent le pH des échantillons au moment du prélèvement. β est exprimé en moles d' H^+ $\times 10^{-2}$ par litre et par unité de pH. 1a : *Etat normal* : $\blacktriangledown$ (6,53), $\bullet$ (7,10), $\square$ (6,33) et $\circ$ (6,98). *Météorisation* : $\triangle$ (6,09). *Privation alimentaire* : $\bullet$ (7,99). 1b : *Acidose lactique* : période à l'ingestion d'urée : $\bullet$ (6,80), acidose : $\circ$ (5,11), retour à la normale : $\square$ (6,23). *Intoxication par l'urée* : $\bullet$ (8,20).

La libération d'ammoniaque dans le rumen consécutive à l'ingestion d'urée (0,5 g/kg) (fig. 1b) s'accompagne d'un pic de grande amplitude centré sur la zone 9-9,5 (pK de l'ammoniaque = 9,26). Par rapport à une gamme d'acétate d'ammonium, le pic indique une concentration de l'ordre de 200 mM/L. On constate aussi, que suite à l'ingestion d'urée, l'amplitude du pic des AGV s'accroît : ceci peut être rapporté à la stimulation par l'azote de l'activité microbienne ou au défaut d'absorption des AGV à pH élevé.

Les tracés obtenus présentent un aspect caractéristique de chacun des états biochimiques étudiés. L'amplitude des pics permet, dans une certaine mesure, d'estimer les concentrations d'AGV, lactate, bicarbonates et ammoniaque. Ainsi, la titrimétrie apparaît-elle comme un moyen d'étude de la biochimie du rumen.

Brugère H., 1984. Pouvoir tampon et évaluation titrimétrique du jus de rumen. *Rec. Méd. vét.*, **160**, 585-593.

Van Slyke D. D., 1922. On the measurement of buffer values and on the relationship of buffer value to the dissociation constant of the buffer and the concentration and reaction of the buffer solution. *J. biol. Chem.*, **52**, 525-570.