

PROTECTION DES PROTÉINES ALIMENTAIRES CONTRE LA DÉSAMINATION BACTÉRIENNE AU NIVEAU DU RUMEN

II. — ÉTUDES « IN VIVO » SUR MOUTONS FISTULÉS.

Françoise LEROY et S.-Z. ZELTER

avec la collaboration technique de Marguerite NAVILLE et Catherine LEGRAND

Laboratoire de Recherches sur la Conservation et l'Efficacité des Aliments,
Centre national de Recherches zootechniques, 78 - Jouy-en-Josas
Institut national de la Recherche agronomique

RÉSUMÉ

A la suite d'une série d'expériences antérieures *in vitro*, une étude est faite *in vivo* sur des moutons munis de canules permanentes de rumen.

On observe l'influence de régimes renfermant des protéines de tourteau d'arachide et de soja protégées par tannage sur les métabolismes azoté et glucidique dans le rumen et sur la digestibilité apparente des composants majeurs de la ration.

La protéolyse et la désamination postprandiales sont très significativement réduites par le tannage. La présence de protéines tannées dans le régime n'affecte absolument pas la production d'acides gras en C₂ et en C₃; celle d'acide butyrique est abaissée très significativement. Parmi les constituants majeurs, seule la matière azotée a une digestibilité légèrement diminuée. La signification nutritionnelle de ces résultats fait l'objet d'une discussion.

INTRODUCTION

Nos études antérieures *in vitro* (LEROY *et al.*, 1964; ZELTER et LEROY, 1966; ZELTER *et al.*, 1969) ont montré que les protéines alimentaires traitées par certains agents tannants d'origine végétale ou synthétique :

- sont stables en milieu de rumen ;
- sont solubilisées quasi totalement par des enzymes protéolytiques, telles la pepsine et la trypsine ;
- n'affectent nullement le pouvoir cellulolytique de la micropopulation ruminale.

Nous rapportons ci-après les observations effectuées *in vivo* sur des moutons munis de canules permanentes de panse. Cette étude se proposait de noter l'effet d'un régime comportant un pourcentage élevé de matières azotées tannées (70 p. 100 de l'azote total) sur :

— l'évolution des concentrations et la répartition postprandiales des formes azotées solubles ($N-NH_3$ et $N n.P = N$ non protéique) et des acides gras volatils dans le rumen, ainsi que les quantités totales de ces métabolites présents au moment de leur concentration maximale ;

— l'utilisation digestive (C. U. D.) des constituants majeurs du régime (matière sèche, matière organique, cellulose, extractif non azoté).

Des données partielles de cette étude ont été publiées dans une communication préliminaire (ZELTER et LEROY, 1966).

MATÉRIEL ET MÉTHODE

1. Ammoniogenèse et production d'acides gras volatils dans le rumen

Six béliers *Ile-de-France* castrés, porteurs de fistules ruminales et pesant en moyenne 60 kg, sont placés pendant toute l'expérience sur caillebotis en cases individuelles. Ils reçoivent un aliment complet contenant 16 p. 100 de matières azotées totales ($N \times 6,25$ p. 100 matière sèche), dont 70 p. 100 proviennent soit d'un tourteau d'arachide non tanné (A) ou tanné (AT), soit d'un tourteau de soja non tanné (S) ou tanné (ST). Le tannage est fait avec 15 p. 100 d'extractif tannant de châtaignier, selon la technique décrite ailleurs (ZELTER *et al.*, 1969). Les aliments sont présentés en agglomérés de 5 mm de diamètre.

Les divers régimes sont expérimentés en rotation. Leur composition est donnée dans le tableau 1.

TABLEAU I

Composants (en p. 100) des mélanges alimentaires agglomérés

	A	AT	S	ST
Pulpe sèche de betterave	20	22	20	22
Orge	10	10	8	8
Foin de graminées	20	20	20	20
Tourteau d'arachide d'extraction non tanné	20	—	—	—
Tourteau d'arachide tanné	—	21,5	—	—
Tourteau de soja d'extraction non tanné ..	—	—	21,5	—
Tourteau de soja tanné	—	—	—	23,3
Paille d'avoine	23	19,5	23,5	19,7
Huile d'arachide	4	4	4	4
Saccharose	1	1	1	1
Phosphate bicalcique	1	1	1	1
NaCl	1	1	1	1
Total	100	100	100	100

Teneur moyenne en p. 100 M.S.

Matière organique	92,2
Matière azotée totale ($N \times 6,25$)	16,0
Cellulose Weende	17,2
Matières grasses	6,0
Extractif non azoté	53,0
Matières minérales	7,8
Vitamine A	3 000 UIkg aliment brut
Vitamine D	600 UIkg aliment brut

Chaque animal reçoit quotidiennement 2 repas (9 h et 17 h) égaux de 500 g de granulés. Il dispose en outre pour la nuit de 250 g de paille de blé grossièrement hachée. De l'eau de boisson est donnée à discrétion ; mais elle est supprimée le jour des mesures 15 minutes avant le repas du matin. Avec ces régimes, les animaux ingèrent journalièrement 0,5 g d'extrait tannant de châtaignier par kg de poids vif.

Deux séries de mesures sont effectuées par traitement après 15 jours d'accoutumance. Chaque essai comporte deux jours non consécutifs de mesure (à 3 jours d'intervalle).

Les prélèvements de contenus de rumen sont faits à divers niveaux et à travers la canule au moyen d'une pompe aspirante munie d'un tube en polyvinyl souple. Le premier prélèvement a lieu à jeun 15 minutes (temps 0) avant le repas matinal d'épreuve, et les suivants à la 30^e, 60^e, 90^e, 130^e, 150^e, 210^e, 270^e, 330^e et 450^e minute postprandiale.

Une solution aqueuse à 10 p. 100 (P/V) de P. E. G. destinée à évaluer le volume de liquide du rumen y est introduite à travers la fistule au temps postprandial 60 minutes.

2. Mesure de la digestibilité globale apparente

Les mesures sont effectuées sur 4 sujets choisis parmi les 6 utilisés précédemment. Ces sujets sont placés en cages à bilan individuelles. L'expérience est conduite en carré latin. Deux régimes sont expérimentés, constitués d'un mélange dans un rapport 2/1 des deux catégories d'aliments employés dans les précédents essais : un régime témoin exempt de protéines tannées (AS) et un régime expérimental à protéines tannées (AT-ST).

Les animaux reçoivent 2 repas égaux de 450 g de mélange et 150 g de paille hachée par jour. Les périodes de mesure de digestibilité ont une durée de 8 jours, précédées chaque fois de 10 jours d'accoutumance.

3. Techniques analytiques.

Les échantillons de contenus de panse sont filtrés aussitôt après prélèvement, sur 6 épaisseurs de gaze. On y dose immédiatement : N-NH₃ (Conway 1950), N soluble (microkjeldahl) après défécation avec une solution d'acide trichloracétique à 20 p. 100 (concentration finale du milieu : 10 p. 100). Les acides gras volatils, distillés immédiatement, sont déterminés par chromatographie gazliquide (ZELTER et LEROY, 1958). Le P. E. G. est déterminé par turbidimétrie selon HYDEN (1961).

Les constituants majeurs des aliments et des matières fécales (matière sèche, matière organique, cellulose Weende, matière azotée totale, extractif non azoté) sont dosés selon des techniques classiques.

RÉSULTATS

Les animaux consomment entièrement et très rapidement leur repas d'épreuve du matin (en 10-15 minutes au maximum). Aucun effet dépressif de la présence de protéines tannées sur l'acceptabilité des régimes ni d'intolérance au tanin ne sont notés durant l'expérience. Tous les sujets gagnent légèrement du poids, en moyenne + 0,9 kg en régime tanné et + 1,2 kg en régime non tanné.

a) Évolution postprandiale de la protéolyse et de la désamination au niveau du rumen

Les teneurs en divers métabolites terminaux sont exprimées soit en mg (N-NH₃ et N n. P), soit en millimoles (acides gras volatils) pour 100 ml de contenu de panse. Leur évolution postprandiale est rapportée graphiquement (fig. 1 et 2). Les quantités totales de métabolites présents à l'instant postprandial 60 minutes sont calculées en grammes d'après les concentrations et les volumes apparents correspondants de liquide du rumen (fig. 5 et 6) estimés d'après les variations des teneurs en P. E. G.

Les concentrations ruminales en N-NH₃ à jeun (temps 0 = 15 minutes avant la distribution du repas d'épreuve) sont voisines et non significativement différentes avec les régimes sans et avec protéines tannées. Les pics se manifestent dans les

deux cas entre la 60^e et la 90^e minute. Ils sont très significativement ($P < 0,001$) réduits en présence de protéines tannées de - 39 p. 100 pour l'arachide et de - 24,6 p. 100 pour le soja, par rapport aux mêmes protéines non protégées.

Les valeurs N-NH₃ sont aussi notablement moins élevées au temps postprandial 450 minutes (fig. 1) avec les régimes à protéines tannées.

Les pics de N non protéique total et de N non protéique non ammoniacal s'observent 30 minutes après le repas ; ils précèdent donc ceux de l'ammoniogenèse. BLACK-

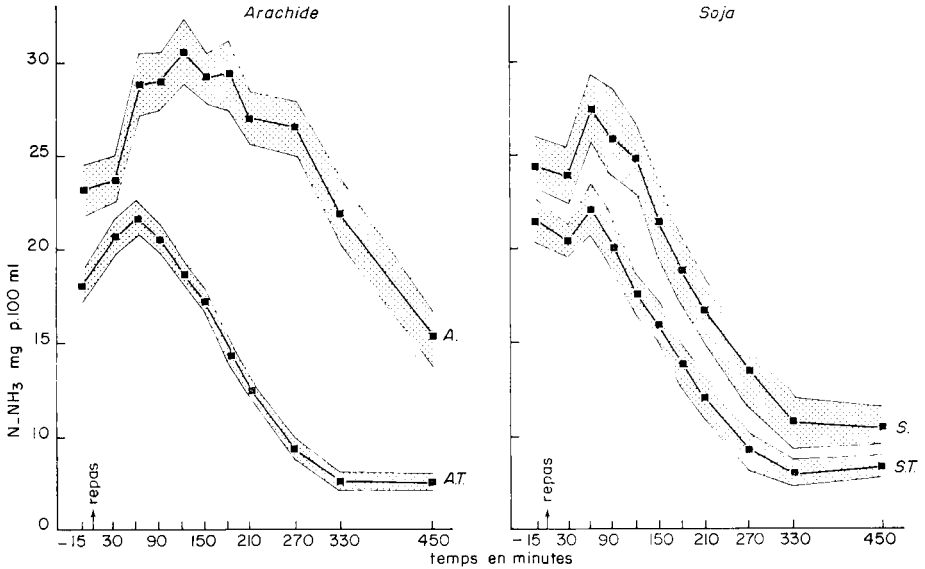


FIG. 1. — Cinétique de l'ammoniogenèse dans le rumen (moyenne de 6 sujets)
A — arachide S — soja T — tanné

BURN (1965) a également observé chez le Mouton ce phénomène avec d'autres régimes. Les concentrations sont, à tout intervalle de temps, plus faibles après ingestion de protéines tannées (fig. 2).

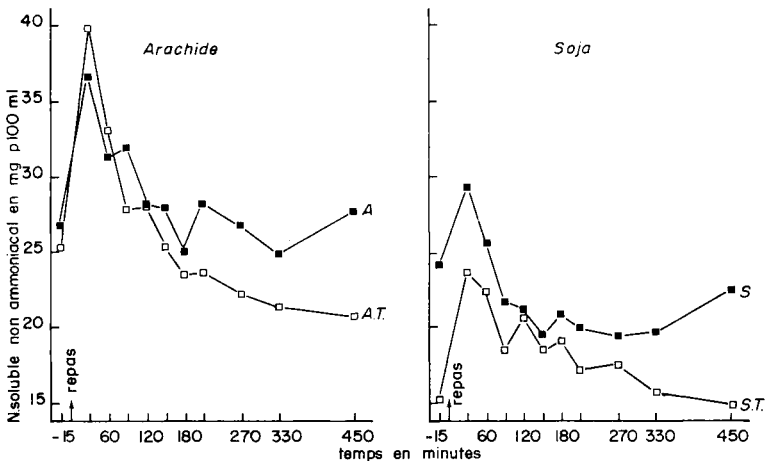


FIG. 2. — N soluble non ammoniacal dans le rumen

La modification des concentrations en NH_3 par rapport au temps 0 (concentration t_x — concentration t_0) indique la même tendance que les valeurs directement mesurées. Dans le cas de l'arachide, le niveau N-NH_3 retombe au seuil à jeun (temps 0) 2 h 30 après l'ingestion du repas tanné, alors qu'avec le repas non tanné, il ne l'atteint qu'après 5 h 30. Dans le cas du soja, les durées respectives sont de 1 h 20 au lieu de 2 h. La durée de la protéolyse est également beaucoup plus courte et plus atténuée après tannage. Les complexes tanniques des protéines expérimentées sont donc parfaitement stables en milieu de rumen.

b) *Évolution postprandiale des concentrations d'acides gras volatils individuels*

Elle est rapportée par les figures 3 et 4. On ne relève pas de variations notables entre les deux traitements tant pour ce qui concerne les teneurs en A. G. V. totaux qu'en acides acétique et propionique. On observe seulement une baisse sensible et significative de la teneur en acide butyrique avec les régimes à protéines tannées d'arachide ou de soja.

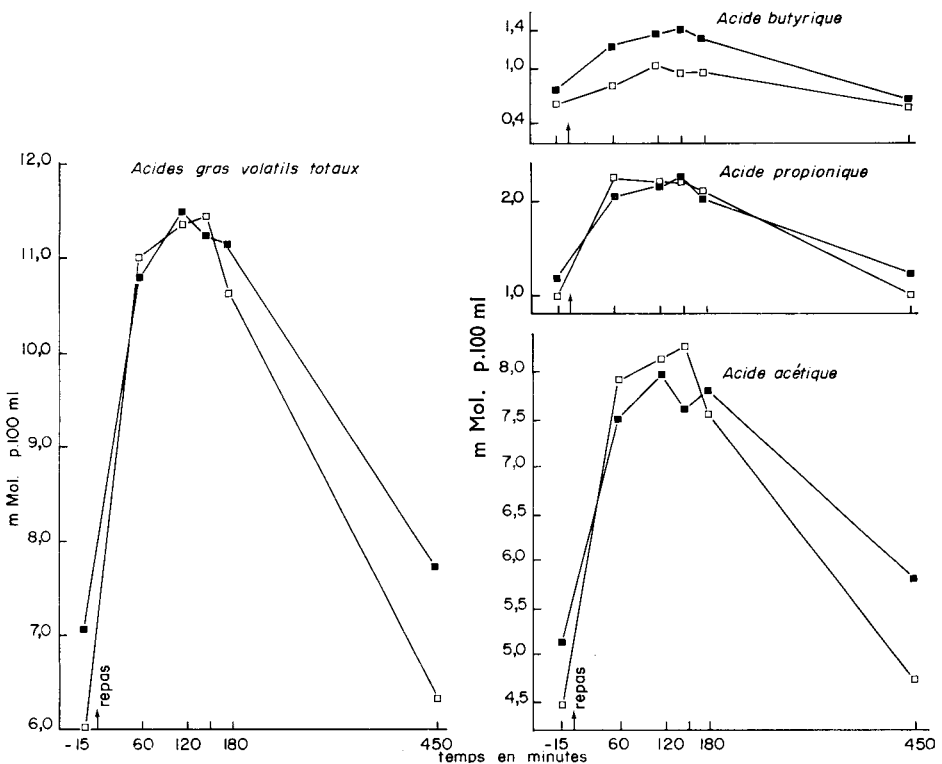


FIG. 3. — Acides gras volatils dans le liquide de rumen

■ : tourteau d'arachide
□ : tourteau d'arachide tanné

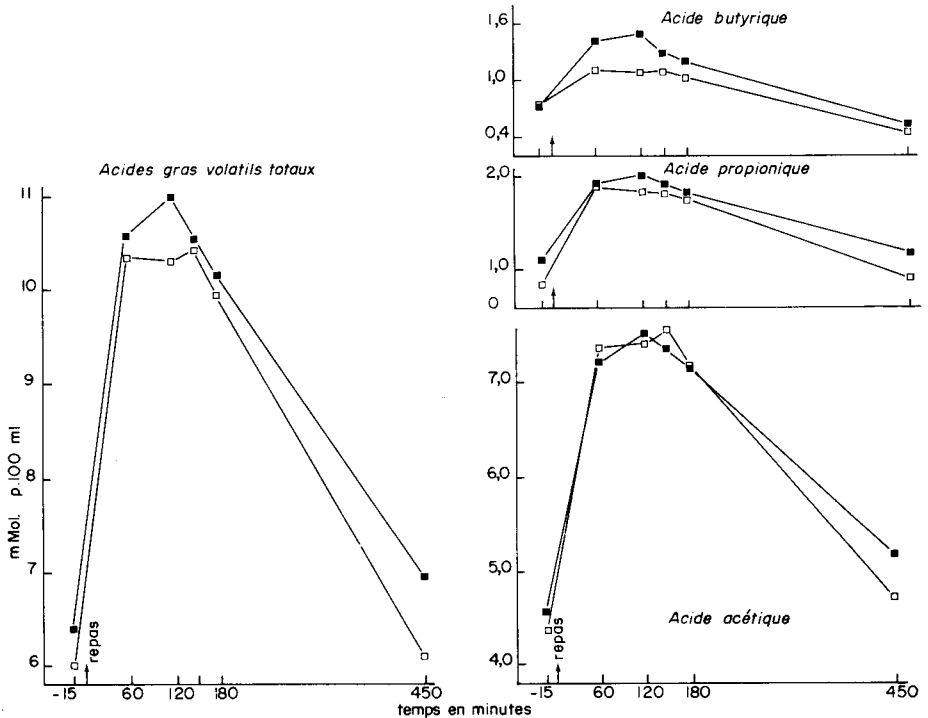


FIG. 4. — Acides gras volatils dans le liquide de rumen

■ : tourteau de soja
□ : tourteau de soja tanné

c) Quantités totales de métabolites terminaux présents instantanément dans la panse au temps postprandial 60 minutes (fig. 5 et 6)

A ce temps, les volumes apparents individuels de fluide de panse oscillent dans des limites étroites (entre 5 et 6 litres) et ne diffèrent pas significativement d'un régime à l'autre.

Les quantités totales de N-NH₃ relevées à ce moment sont très significativement ($P < 0,001$) plus faibles avec les régimes à protéines tannées : les différences respectives en faveur du tannage sont de - 32,1 p. 100 pour l'arachide et de - 22,7 p. 100 pour le soja. Les quantités totales de N n. P non ammoniacal ne diffèrent par contre pas entre régimes non tannés et tannés. Il n'y a pas davantage de différence entre protéines traitées et non traitées dans les quantités totales d'acides acétique et propionique. L'acide butyrique est, par contre, abaissé très significativement par le tannage dans le cas de l'arachide ($P < 0,01$) et significativement ($P < 0,05$) dans le cas du soja : la diminution atteint respectivement - 45,5 p. 100 et - 24,5 p. 100.

L'effet négatif du tannage sur la production d'acide butyrique se retrouve d'ailleurs au niveau de la répartition molaire des acides gras en C₂, C₃ et C₄, comme le montre le tableau 2. Cette déviation de l'activité bactérienne se marque au bénéfice de l'acide acétique.

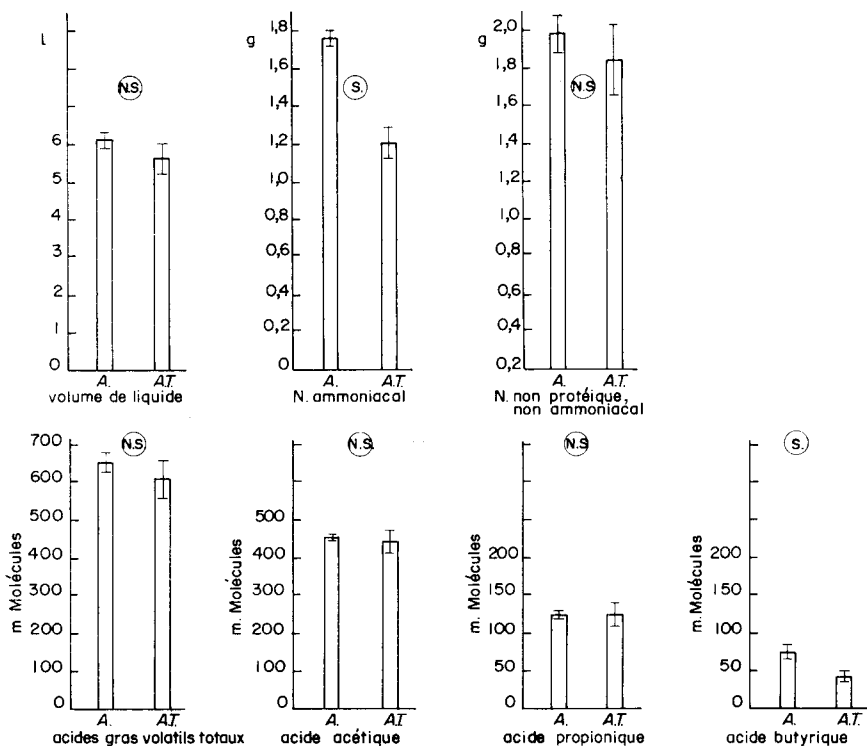


FIG. 5. — Arachide. Quantités totales présentes dans le liquide de rumen à 60 minutes.

A arachide
 AT arachide tanné
 S différence significative
 NS différence non significative.

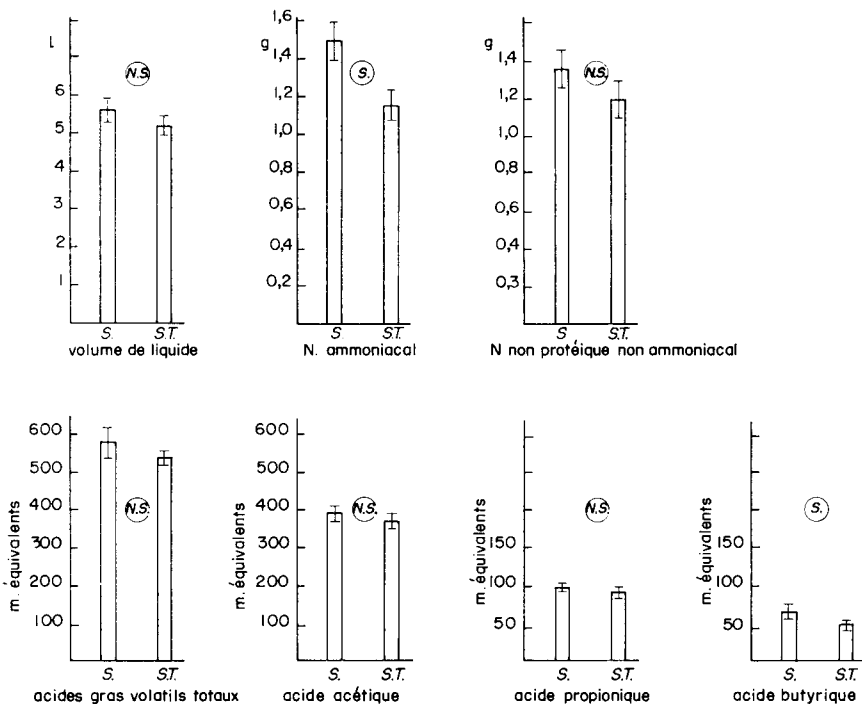


FIG. 6. — Soja. Quantités totales présentes dans le liquide de rumen à 60 minutes.

N S : différence non significative
 S : différence significative.

TABLEAU 2

Répartition molaire des A. G. V. (en p. 100 des quantités molaires totales d'A. G. V.)
présents dans le rumen au temps postprandial 60 minutes

Régimes	A	AT	S	ST
Quantités totales				
A.G.V. en millimoles	656	606	582	537
Répartition des A.G.V. en p. 100				
Acétique	69,4	72,4	69,0	71,3
Propionique	18,9	20,5	18,0	18,1
Butyrique	11,7	7,1	13,0	10,6

d) Utilisation digestive (C. U. D.)

Les C. U. D. sont consignés dans le tableau 3. On n'observe aucune différence entre régimes pour la digestibilité de la matière sèche, de la matière organique et de la cellulose Weende. Les valeurs enregistrées sont normales ainsi que les variations individuelles observées pour le dernier composant.

On note en revanche un abaissement très notable du C. U. D. de l'azote du régime à protéines tannées : 64,9 au lieu de 71,3 pour le régime non tanné, soit une chute moyenne de 9 p. 100. L'importance de cette chute est variable ; elle s'échelonne de 2 à 9 points selon les sujets.

TABLEAU 3

Coefficients de digestibilité (p. 100) en présence d'un mélange de tourteaux d'arachide
et de soja tannés ou non

Mouton :	Aliment non tanné : AS				
	n° 24	n° 42	n° 45	n° 89	Moyenne
Matières :					
Sèches	60,0	60,1	59,1	62,2	60,3
Organiques	61,5	62,0	60,9	64,9	62,3
Cellulosiques	47,0	46,1	55,2	54,2	50,6
Azotées	71,0	75,0	70,1	69,2	71,3
Extractif non azoté + M.G. ...	65,0	65,4	61,2	68,2	65,0

Matières :	Aliment tanné : AT-ST				
Sèches	59,2	61,0	58,6	62,1	60,2
Organiques	63,8	62,8	60,9	62,2	62,4
Cellulosiques	50,0	58,9	50,6	50,5	52,5
Azotées	68,9	66,3	64,2	60,0	64,8
Extractif non azoté + M.G. ...	67,8	63,6	64,3	67,4	65,8

DISCUSSION ET CONCLUSION

La technique de prélèvement du contenu de rumen à travers la canule n'est certes pas exempte de critique, les caractéristiques de ce contenu pouvant varier selon la zone de prélèvement. Celui du sac ventral est généralement plus liquide que celui du sac dorsal. Le pH peut également différer entre la zone postérieure et antérieure du rumen. Dans nos expériences, les conditions de prélèvement sont absolument identiques pour tous les régimes et animaux. De plus, tous les animaux ont à tour de rôle subi tous les traitements expérimentaux et consommé des quantités rigoureusement identiques de matière sèche en un temps similaire. En outre, l'eau de boisson a été systématiquement supprimée les jours de mesure. De la sorte, l'interférence de ces différents facteurs a pu être réduite au maximum. La très faible dispersion de nos données concernant l'évolution des concentrations en divers métabolites terminaux et de volume de fluide du rumen déterminé au temps 60 minutes, donne à supposer que nos prélèvements à travers la canule représentent correctement le contenu de la panse.

Le rumen est un organe digestif dynamique et perméable. Ses concentrations instantanées en divers métabolites ultimes de la digestion du bol alimentaire sont sous la dépendance de l'équilibre entre processus multiples : actions cataboliques et anaboliques continuelles de sa micropopulation, résorption et réabsorption de métabolites *in situ via* le sang, volume de flux salivaire pénétrant dans ce réservoir et volume de flux de digesta qui le quitte. A tout moment les concentrations mesurées au niveau de la panse ne reflètent donc qu'un état instantané.

Nonobstant ces processus généralement concomitants, les propriétés physico-chimiques de la protéine semblent déterminer dans une fort large mesure la rapidité de son hydrolyse en peptides et acides aminés qui peuvent être virtuellement catabolisés quasi totalement en $N-NH_3$ par la micropopulation ruminale. Aussi, une caséine qui est totalement soluble est hydrolysée dans la panse à 70 p. 100 dans la première heure, alors que le gluten de soja ne l'est qu'à 87 p. 100 en 6 heures, dans les mêmes conditions de pH (6,5-7,0) du rumen.

L'opinion selon laquelle l'ammoniogenèse ruminale serait proportionnelle à la solubilité de la protéine (LEWIS, 1962) n'est toutefois pas entièrement partagée (LITTLE *et al.* 1963). La plupart des données bibliographiques prouvent cependant que plus une protéine est soluble et plus forte est la concentration ruminale en $N-NH_3$.

Nos expériences *in vivo* confirment entièrement tous nos résultats *in vitro* : nos données montrent que les protéines d'arachide sont effectivement bien plus vulnérables à la dégradation bactérienne que celles de soja. Cette observation explique pourquoi l'arachide et la caséine sont beaucoup plus rapidement digérées par le ruminant que la protéine de soja ou le gluten de blé, par exemple (LEWIS, 1962).

L'évolution postprandiale des concentrations en $N-NH_3$, N n. P total et N n. P non ammoniacal montre d'une part que les différences entre traitements proviennent essentiellement du processus désaminant qui est dominant. En effet, les concentrations en $N-NH_3$ et en N n. P sont fortement abaissées après tannage dans les 3 premières heures qui suivent l'ingestion du repas d'épreuve. Cela est plus spécialement net dans le cas du régime à base d'arachide. Entre la 4^e et la 7^e heure postpran-

diale, les effets du tannage se marquent surtout sur l'azote non ammoniacal. D'autre part, les pics de N n. P total et de N n. P non ammoniacal sont atteints à la 30^e minute postprandiale alors que ceux de N-NH₃ ne se produisent qu'entre la 60^e et la 90^e minute. L'activité protéolytique semble donc dominante immédiatement après le repas. La plus grosse part des protéines hydrolysées dans le rumen par les protéases bactériennes sont pratiquement désaminées dans la première phase postprandiale. A partir de la 4^e heure, le processus s'atténue fortement : les teneurs en N-NH₃ continuent à s'abaisser alors que celles de N n. P non ammoniacal se maintiennent pratiquement en plateau à un niveau proche de celui noté à jeun (15 minutes avant l'ingestion du repas).

La comparaison des concentrations instantanées et des quantités totales d'ammoniaque et d'acides gras individuels fait ressortir très significativement la faculté du tannage de protéger efficacement la « protéine » d'arachide ou de soja contre les actions catabolisantes de la micropopulation ruminale.

Ce traitement ne modifie en rien l'utilisation digestive de la plupart des constituants majeurs de la ration et n'exerce surtout aucune action inhibitrice sur l'activité cellulolytique de la micropopulation ruminale puisque le C. U. D. de la cellulose n'est absolument pas modifié en présence de protéines tannées.

L'effet dépressif exercé par le tannage sur le C. U. D. de la matière azotée laisse supposer que la fraction protéique insolubilisée par le tanin ne serait pas entièrement libérée de son complexe dans la suite du tube digestif. L'ampleur de ce blocage semblerait plutôt liée à l'individu.

Cette chute du C. U. D. apparent de l'azote pourrait avoir plusieurs causes :

- a) suppression de la désamination ;
- b) irréversibilité partielle des complexes tanniques des protéines par les enzymes pancréatiques ;
- c) augmentation de la perte azotée endogène.

Les données préliminaires de bilans de rétention azotée déjà publiées (DELORT-LAVAL et ZELTER, 1968) et celles que rapporteront les prochains mémoires montrent, en revanche, que l'effet dépressif exercé par le tannage au niveau du transit digestif est compensé largement au-delà par une amélioration fort appréciable de l'utilisation métabolique de la fraction azotée qui franchit la barrière intestinale.

Cette inhibition de la désamination explique sans doute également la chute très significative de la production d'acide butyrique occasionnée par le tannage, des acides gras volatils, en C₄ entre autres, se formant à partir de chaînes carbonées résiduelles provenant de la désamination de certains acides aminés (ANNISON *et al.*, 1954, OTAGAKI *et al.*, 1955).

En définitive, l'ensemble de nos données expérimentales mettent nettement en évidence l'action favorable du tannage des protéines en vue de leur protection contre les actions catabolisantes de la micropopulation ruminale, nuisibles à leur efficacité nutritionnelle. Reste à connaître l'ampleur de l'épargne azotée escomptée de ce traitement et bien évidemment l'intérêt économique de celui-ci. Les résultats d'expériences actuellement achevées sur animaux en production (croissance, lactation) qui feront l'objet des prochaines publications, apportent la réponse à cette question.

Reçu pour publication en mars 1970.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient vivement la Société des Produits Chimiques et Cellulose Rey dont le concours financier a contribué à la réalisation de cette étude.

SUMMARY

PROTECTION OF DIETARY PROTEINS AGAINST BACTERIAL DEAMINATION IN THE RUMEN

II. — *IN VIVO* STUDIES ON FISTULATED SHEEP

As a result of previous *in vitro* experiments (LEROY *et al.*, 1964 ; ZELTER and LEROY, 1966), an *in vivo* study has been done on 6 adult sheep fitted with permanent rumen cannulae, and kept either in individual, slatted-floor pens or in metabolic crates.

Using the Latin square design, this experiment was carried out to observe the effect of introducing into the diet proteins (peanut or soya-bean meals) tanned with chestnut wood tannin. The evolution of postprandial concentrations of ammonia N, non-ammonia non-protein N, and volatile fatty acids (C₂, C₃, C₄) in the rumen, and the digestibility of the major diet components was studied.

The tanned proteins represent 70 p. 100 of total ingested protein. Two series of metabolic measurements were performed in the rumen, each series having two non-consecutive days of measurement (at a 3-day interval). Samples of rumen liquor were taken at intervals varying from 0 to 7 hours following the test meal. After 10 days of adaptation, digestibility measurements were recorded for 8 days.

Tanning with chestnut wood tannin had the following effects :

— rumen N-NH₃ and non-ammonia non-protein N concentrations as well as the total quantity of these metabolites present at 60 minutes after the meal, $P < 0.01$, figs. 5, 6) are very significantly reduced ($P < 0.001$) at any time interval ;

— neither the concentration (figs. 3, 4) nor the total quantity (figs. 5, 6) of C₂ and C₃ fatty acids are affected. Those of butyric acid are very significantly reduced ;

— digestibility of organic matter, cellulose, and N-free extract are not affected, but the protein digestibility coefficient is reduced by 9 p. 100.

The nutritional significance of these observations is discussed. The effect of the tanning process on nitrogen balance will be studied in future papers.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANNISON E. F., CHALMERS M. I., MARSHALL S. B. M., SYNGE R. C. M., 1954. Ruminal ammonia formation with various diets. *J. Agric. Sci.* **44**, 270-273.
- BLACKBURN T. H., 1965. Nitrogen metabolism in the rumen in DOUGHERTY R. W., 1965. *Physiology of digestion in the ruminant*. Butterworths Washington, p. 322-334.
- CONWAY E. J., 1950. *Microdiffusion and volumetric error*. 3^e édit. p. 95-97. Crosby Lockwood & Co. Ltd London.
- DELORT-LAVAL J., ZELTER S.-Z., 1968. Improving the nutritive value of proteins by tanning process. *Proc. Sec. World Conf. Anim. Prod. Maryland.*, July 1968, 457-458.
- HYDEN S., 1961. Determination of the amount of fluid in the reticulorumen and its rate of passage to the omasum. *Kung. Lantbruks. Annaler*, **27**, 51-78.
- LEROY F., ZELTER S.-Z., FRANÇOIS A. C., 1964. Protection des protéines alimentaires contre la désamination bactérienne au niveau du rumen. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, **259**, 1592-1595.
- LEWIS D., 1962. The interrelationship of individual proteins and carbohydrate during fermentation in the rumen of the sheep. *J. Agric. Sci.* **58**, 73-79.

- LITTLE C. O., BURROUGH S. W. 1963. Nutritional significance of soluble nitrogen in dietary proteins. *J. anim. Sci.*, **22**, 358-363.
- OTAGAKI K. K., BLACK A. L., GOSS H., KLEIBER M., 1955. *In vitro* studies with rumen microorganisms using carbon-14 labelled casein glutamic acid, leucine and carbonate. *J. Agric. Food Chem.*, **3**, 948-951.
- ZELTER S.-Z., LEROY F., 1958. Effet de l'urée sur la digestion des glucides d'une paille de blé et d'une farine de luzerne déshydratée. *Ann. Zootech.* **7**, 173-184.
- ZELTER S.-Z., LEROY F., 1966. Schutz der Nahrungsproteine gegen mikrobielle Desaminierung im Pansen. 18 Tagung der Gesellsch. f. Ernährungsphysiol. der Haustiere, Giessen 26-28 april 1965. *Zeitschr. f. Tierphys.-Tierernähr. u. Futtermittelk.*, **22**, 39-46.
- ZELTER S.-Z., LEROY F., TISSIER J. P. 1970. I. Études *in vitro*. Comportement en milieu de rumen de quelques protéines tannées avec du tanin de châtaignier ou certains aldéhydes. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, **10**, 111-122.