



# Détermination de la teneur en fibres dans les aliments pour animaux à ALP

Silvia Ampuero Kragten, Station de recherche Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, CH-1725  
Posieux

Renseignements: Silvia Ampuero K., E-mail: [silvia.ampuero@alp.admin.ch](mailto:silvia.ampuero@alp.admin.ch), Tel. +41 26 40 77 359

## 1. [Le principe](#)

[1.1. CF](#)

[1.2. NDF](#)

[1.3. ADF](#)

[1.4. Lignine](#)

[1.5. Hémicellulose](#)

[Tableau récapitulatif des méthodes](#)

## 2. [Les méthodes utilisées à ALP](#)

[2.1. RF ou RFB](#)

[2.2. NDFB](#)

[2.3. ADFB](#)

[2.4. LIGB](#)

[2.5. HEMB](#)

## 1. Le principe

Une des composantes importantes des aliments pour animaux est la teneur en fibres. Elle représente la fraction de l'aliment la plus difficile à digérer. Chez le ruminant, des différences dans la quantité et les propriétés physiques et chimiques des fibres dans l'aliment peuvent affecter la performance et la productivité de l'animal, et notamment altérer les fermentations dans la panse, le métabolisme, le taux de lipides dans le lait produit et finalement, la santé de l'animal à long terme [1].

Le terme fibre désigne en général les constituants des parois cellulaires des plantes, comprenant une grande variété de polysaccharides structuraux qui sont souvent liés à des protéines et à des phénols, particulièrement à la lignine. Les principaux polysaccharides des parois cellulaires des plantes sont : la cellulose, différentes hémicelluloses (p.ex. arabinoxylyanes,  $\beta$ -glucanes, xyloglucanes, arabinogalactanes) et des polysaccharides pectiques [2]. La lignine est un polymère phénolique composé d'unités de phényle-propane, dont le rôle est de cimenter et durcir les parois cellulaires.

### 1.1. Cellulose brute (*anglais : crude fiber, CF*)

L'évaluation du contenu en fibres est utilisée depuis le milieu du XIX siècle pour estimer la valeur énergétique et ainsi évaluer la qualité des aliments pour animaux [2]. Aujourd'hui, la méthode largement utilisée pour l'estimation de la cellulose brute est connue comme méthode

Weender (RF ou RFB à ALP). Cette méthode, purement empirique (définie uniquement par la méthode d'analyse elle-même), est très robuste et peut être appliquée à toutes sortes d'aliments. Cependant, le traitement avec une solution acide suivi du traitement avec une solution basique provoque une importante solubilisation des polysaccharides structuraux ainsi que d'une partie de la lignine présents initialement dans l'échantillon. De sorte que la détermination de la cellulose brute ne comprend pas toutes les composantes des parois cellulaires, voir schéma. Selon l'aliment, la fraction cellulose brute peut contenir entre 40 et 100% de cellulose, entre 15 et 20% de pentosanes (hémicellulose), et entre 5 et 90% de lignine de l'échantillon [3].

## **1.2. Parois, fibres insolubles dans les détergents neutres (*anglais : neutral detergent fiber, NDF*)**

En 1967, Van Soest et Wine publient pour la première fois une méthode pour isoler la fraction des fibres insolubles (insoluble dietary fibre) provenant des parois cellulaires de plantes, comprenant la cellulose, l'hémicellulose et la lignine [4].

La définition universellement acceptée de NDF, en rapport aux ruminants et herbivores non-ruminants, est la suivante: **NDF est la fraction organique de la diète -en dehors des cendres brutes- qui est indigestible ou lentement digestible et qui occupe de la place dans le tube gastro-intestinal.** Cette définition de NDF inclut les polysaccharides complexes à fermentation lente, provenant de parois cellulaires, tels que cellulose et hémicellulose, mais exclut les polysaccharides à fermentations rapides, tels que la pectine, ainsi que les polysaccharides solubles (fructanes, etc.).

Ainsi, l'aliment est séparé en deux fractions majeures, avec des propriétés différentes de digestibilité et ingestion chez les ruminants et souvent aussi chez les non-ruminants: Alors que la fraction NDF présente une digestibilité variable, occupe de la place dans le système digestif et nécessite une énergie non négligeable pour réduire la taille des particules par mastication, la fraction complémentaire (= 100-NDF) est facilement digérée, elle occupe très peu de place car solubilisée rapidement et ne nécessite qu'un minimum de mastication. Suite à une vaste étude menée entre plusieurs laboratoires, Mertens publie en 2002 des recommandations pour standardiser la méthode NDF, comprenant toutefois plusieurs variantes [5]. A l'issue de cette étude, il prône l'utilisation de sulfite de sodium malgré le risque de dissolution de certains composés phénoliques (lignine) dans quelques aliments, car il considère primordiale l'élimination des résidus protéiniques (importants sans l'utilisation de sulfite de sodium). Le sulfite, en cassant les liaisons S-S solubilise des composés complexes tels que des protéines à liaisons croisées du type kératine. D'autre part, l'utilisation d'enzymes  $\alpha$ -amylase pour éliminer l'amidon est aussi considérée comme cruciale. Mertens recommande une enzyme thermorésistante afin de diminuer la durée d'application et ainsi diminuer le risque de dissolution des fibres. Il est aussi nécessaire de standardiser rigoureusement la quantité d'enzymes nécessaires. Par ailleurs, Mertens offre l'option d'exprimer le résultat soit en matière organique (après soustraction des cendres brutes, aNDFom ou NDFom), soit en échantillon original (sans soustraction des cendres brutes aNDF ou NDF) Cependant, d'autres auteurs estiment nécessaire de donner NDF en matière organique, ne serait-ce qu'à cause de la variabilité de la contamination des fourrages et aliments par des contaminations terreuses [6]. Finalement, Mertens détermine en détail l'influence des différentes étapes de la méthode afin de minimiser les variations dans la détermination de NDF. Entre autres, l'importance du lavage consciencieux du résidu avec de l'eau bouillante car il permet d'éliminer les résidus protéiques, lipidiques et autres carbohydrates non-fibreux qui autrement restent accrochés aux fibres car fortement visqueux. Le pH doit aussi strictement rester entre 6.95 et 7.05 afin d'éviter la solubilisation des fibres par les solutions acides ou alcalines.

### **1.3. Lignocellulose, fibres insolubles dans les détergents acides (*anglais : acid detergent fiber, ADF*)**

ADF est une méthode empirique, publiée en 1963 par Van Soest comme étape préalable à la détermination de la lignine [7]. Un traitement acide est appliqué dans cette méthode pour éviter les pertes de lignine qui est soluble dans les solutions alcalines. Le détergent cationique, bromure de cetyl triméthylammonium, permet la séparation des protéines du résidu fibreux. Comme CF, ADF isole principalement la cellulose et la lignine, mais non l'hémicellulose. De plus, certaines pectines à fermentation rapide peuvent précipiter dans la solution fortement acide, ce qui peut induire des valeurs d'ADF plus élevées que NDF, spécialement dans des échantillons à forte teneur en pectine (luzerne tendre, pulpe d'agrumes) [3, 8].

Les composés silicatés biogènes se retrouvent quantitativement dans la fraction ADF, mais sont partiellement lessivés dans NDF [9]. Par contre, la silice non-biogène (sable, etc.) est complètement récupérée aussi bien dans ADF que dans NDF, c'est pourquoi il est important de corriger ces valeurs par la teneur en cendres (ADFom et aNDFom, respectivement ADFB et NDFB à ALP) [6]. En effet, différentes études de digestibilité suggèrent une meilleure corrélation avec ADF et NDF lorsque ces dernières sont corrigées de la teneur en cendres [9]

### **1.4. Lignine, (*anglais : acid detergent lignin, ADL*)**

La détermination de la lignine à partir du résidu ADF peut se faire par traitement avec de l'acide sulfurique concentré (lignin(sa), ADSL, LIGB à ALP) ou par traitement avec du permanganate (lignin(pm), ADPL). Généralement l'usage de permanganate donne des valeurs en lignine plus élevées. La lignine représente la fraction de NDF complètement indigeste.

### **1.5. Hémicellulose**

L'hémicellulose est généralement estimée par la différence : NDF moins ADF.

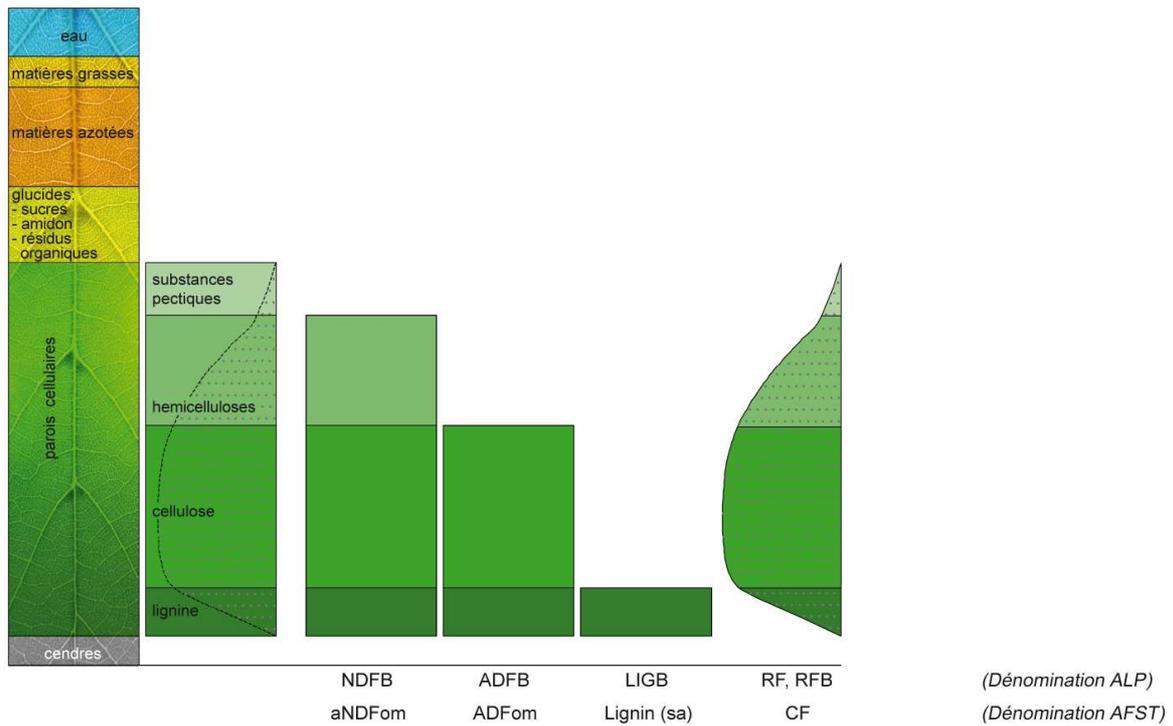
L'analyse séquentielle, d'abord NDF puis ADF sur le résidu et finalement lignine, permet d'effectuer des déterminations plus précises de l'hémicellulose et de la cellulose. Effectivement, de cette façon diverses interférences peuvent être évitées. Cependant, dans certains cas, cette procédure peut conduire à la perte des fractions intéressantes. Ainsi, la pectine soluble dans NDF n'est plus disponible pour la détermination d'ADF, résultant en des teneurs plus faibles d'ADF que lors de l'analyse non-séquentielle. La situation est la même en cas d'importantes teneurs en silice biogène et certains tannins. La différence des valeurs à l'issue d'une double détermination séquentielle, d'une part NDF puis ADF et d'autre part ADF puis NDF, indique la présence de tannins insolubles [6].

En plus des méthodes gravimétriques pour la détermination de la teneur en fibre, d'autres méthodes plus récentes existent qui étaient initialement développées pour la nutrition humaine. La méthode enzymatique-chimique (méthode Uppsala [10]) utilise des enzymes spécifiques pour éliminer les sucres et l'amidon de l'échantillon, suivi par la récupération des polysaccharides solubles restants par précipitation avec de l'éthanol 80%. Après hydrolyse du résidu (NSP = polysaccharides différents de l'amidon), avec de l'acide sulfurique 12 M, l'analyse des constituants monomériques se fait en fonction des différentes fractions. Ainsi, les monomères du type « sucres neutres » sont analysés par GC, ceux du type « sucres acides » par colorimétrie, et par gravimétrie la lignine selon Klason [2, 3, 10]. La somme des différentes fractions équivaut à NDF. La modification apporté par Knudsen permet de déterminer l'hémicellulose (NCP = polysaccharides différents de la cellulose) en utilisant de l'acide sulfurique 1 M, au lieu de 12 M, pour l'hydrolyse du résidu en constituants monomériques [11]. Ainsi, la cellulose est donnée par NSP moins NCD. Alors que cette

approche fournit une information plus détaillée, ces méthodes sont moins reproductibles et beaucoup moins économiques que les méthodes gravimétriques avec détergent.

Finalement, la spectroscopie par réflectance dans le proche infrarouge (NIRS) a le potentiel d'effectuer aussi bien des déterminations quantitatives de la composition chimique que directement l'analyse nutritionnel de l'aliment [12, 13].

### Schéma de la composition chimique des aliments pour animaux et particulièrement des composantes des parois cellulaires



## Tableau récapitulatif des méthodes d'analyse des constituants des parois cellulaires dans les aliments pour animaux

La colonne AFST donne les dénominations recommandées par le journal *Animal Feed Science and Technology*. La colonne ALP donne les dénominations utilisées pour les analyses correspondantes appliquées à ALP, ainsi que les numéros de méthodes. Les colonnes ISO (International Organization of Standardization), AOAC (Association of analytical communities) et VDLUFA (Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten) donnent les numéros des méthodes correspondantes propres à chaque institution.

<sup>1</sup> AFST	Description	ALP	<sup>4</sup> ISO	<sup>5</sup> AOAC	<sup>6</sup> VDLUFA	Remarques/ Références
<b>CF</b>	Cellulose brute, corrigée par la teneur en cendres ( <i>Crude Fibre</i> )	<b>RF</b> <sup>2</sup> [ME 7046] <b><sup>3</sup>RFB</b> [ME 5826]	6865 :2000	978.10	6.1.4	Weender Methode
<b>NDF</b>	Fibres insolubles dans les détergents neutres ( <i>Neutral Detergent Fibre</i> )				6.5.1	Van Soest and Wine, 1967
<b>aNDF</b>	NDF avec adjonction d'amylase thermorésistante ( <i>NDF assayed with heat stable amylase</i> )		16472:2006	2002.04	6.5.1 Bemerkung 8	
<b>NDFom</b>	NDF corrigé par la teneur en cendres ( <i>NDF expressed as organic matter</i> )				6.5.1 Bemerkung 8	
<b>aNDFom</b>	NDF avec adjonction d'amylase thermorésistante et corrigé par la teneur en cendres ( <i>NDF assayed with heat stable amylase and expressed as organic matter</i> )	<b><sup>3</sup>NDFB</b> [ME 7054]	16472:2006	2002.04		Mertens, 2002
<b>ADF</b>	Fibres insolubles dans les détergents acides ( <i>Acide Detergent Fibre</i> )				6.5.2	Van Soest, 1963
<b>ADFom</b>	ADF corrigé par la teneur en cendres ( <i>ADF expressed as organic matter</i> )	<b><sup>3</sup>ADFB</b> [ME 7053]			6.5.2 Bemerkung 8	
<b>Lignin (sa)</b>	Lignine par traitement du résidu ADF avec de l'acide sulfurique, (ADL) ( <i>Lignin by cellulose solubilization with sulphuric acid</i> )	<b><sup>3</sup>LIGB</b> [ME 7055]		973.18	6.5.3	
<b>Lignin (pm)</b>	Lignine par oxydation de la lignine, avec du permanganate, dans le résidu ADF (ADL) ( <i>Lignin by lignin oxidation with permanganate</i> )					

<sup>1</sup>Animal Feed Science and Technology. <sup>2</sup>[ME ...]: méthode ALP. <sup>3</sup>B indique l'utilisation d'un système type batch. <sup>4</sup>International Organization of Standardization. <sup>5</sup>Association of analytical communities. <sup>6</sup>Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten.

## **2. Les méthodes utilisées à ALP pour la détermination des fibres**

### **2.1. Cellulose brute (RF ou RFB)**

L'échantillon est traité par une solution 1.25% d'acide sulfurique puis par une solution 1.25% d'hydroxyde de sodium. Les solutions sont appliquées proches du point d'ébullition, chaque traitement dure  $30 \pm 1$  min. Les échantillons avec une teneur en graisse  $> 60\text{g/kg}$  sont préalablement dégraissés avec de l'acétone. Le résidu est à chaque fois lavé à l'eau chaude et séché. Finalement, le résidu est calciné pendant 1 h à  $530^\circ\text{C}$ . Le résidu, après le traitement acide puis basique, déduit du résidu de la calcination représente RF. Il est exprimé en g/kg.

Cette méthode est appliquée à ALP soit de façon individuelle (Fibertec, RF) soit avec un système batch (Ankom, RFB).

### **2.2. Parois (NDFB)**

L'échantillon est traité par une solution détergente neutre contenant du laurylsulfate de sodium, du sulfite de sodium et une solution d' $\alpha$ -amylase thermorésistante, à  $98^\circ\text{C}$  pendant 60 min. Après un lavage répété à l'eau bouillante, le résidu est dégraissé avec de l'acétone puis séché et calciné pendant 1 h de  $530$  à  $550^\circ\text{C}$ .

NDF représente le résidu après traitement avec le détergent neutre déduit des cendres. Cette analyse se fait à ALP uniquement dans un système en batch (Ankom); NDFB.

### **2.3. Lignocellulose, (ADFB)**

L'échantillon est traité par une solution de détergent acide : bromure de N-cétyl-N,N,N-triméthylammonium dans de l'acide sulfurique 0.5 M. Le détergent acide est appliqué chaud et amené rapidement à ébullition, le traitement dure 60 min. Le résidu est lavé soigneusement 3 fois avec de l'eau bouillante. Le résidu est dégraissé dans de l'acétone, puis séché et calciné pendant 1 h de  $530$  à  $550^\circ\text{C}$ .

ADF représente le résidu du traitement avec le détergent acide déduit des cendres. Cette analyse se fait à ALP uniquement dans un système batch (Ankom); ADFB.

### **2.4. Lignine (LIGB)**

Le résidu ADFB, avant calcination, est traité par une solution d'acide sulfurique 72% pendant 3h à  $20$  à  $23^\circ\text{C}$ . Le résidu est soigneusement lavé d'abord avec de l'eau froide, puis à l'eau bouillante, jusqu'à un pH neutre. Le résidu est dégraissé avec de l'acétone, puis séché et calciné pendant 1 h à  $550^\circ\text{C}$ . LIGB représente le résidu déduit des cendres. Comme la détermination de la lignine est précédée par la détermination d'ADF au moyen d'un système batch à ALP (ADFB), la dénomination de l'analyse de lignine à ALP est LIGB.

### **2.5. Hémicellulose (HEMB)**

Résulte de : NDFB moins ADFB

D'une manière générale ces analyses sont effectuées de façon parallèle à ALP, c'est-à-dire non-séquentielle.

## Références

1. Mertens D. R. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements on dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80: 1463-1481.
2. Hindrichsen K., Kreuzer M., Madsen J. and Bach Knudsen K. E. 2006. Fiber and lignin analysis in concentrate, forage and feces: Detergent versus enzymatic-chemical method. *J. Dairy Sci.* 89: 2168-2176.
3. Mertens D. R. 2003. Challenges in measuring insoluble dietary fiber. *J. Anim. Sci.* 81: 3233-3249.
4. Van Soest P. J. and Wine R. H. 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV Determination of plant cell wall constituents. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 50-50.
5. Mertens D. R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. *J. AOAC International* 85/6 1217-1240.
6. Van Soest P. J., Robertson J. B. and Lewis B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
7. Van Soest P. J. 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I. Preparation of fiber residues of low nitrogen content. *J. Assoc. Off. Agr. Chem.* 46: 825-829.
8. Animal Feed Science and Technology editorial. 2005. Use of detergent system terminology and criteria for submission of manuscripts on new or revised, analytical methods as well as descriptive information on feed analysis and/or variability. *AFST* 118: 181-186.
9. Crocker L. M., DePeters E. J., Fadel J. G., Essex S. E., Perez-Monti H. and Taylor S. J. 1998. Ash content of detergent fibers in feeds, digesta, and feces and its relevance in fiber digestibility calculations. *J. Dairy Sci.* 81:1010-1014.
10. Theander O., Aman P., Westerlund E., Anderson R. and Pattersson D. 1995. Measurement of dietary fiber using sugar analyses: collaborative study. *J. AOAC Int.* 78: 1030-1044.
11. Knudsen K. E. 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Anim. Feed Sci. Tech.* 67: 319-338.
12. Coleman S. W. and Moore J. E. 2003. Feed quality and animal performance. *Field Crops Research* 84: 17-29.
13. Mentink R. L., Hoffman P. C. and Bauman L. M. 2006. Utility of near-infrared reflectance spectroscopy to predict nutrient composition and in vitro digestibility of total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 89: 2320-2326.

Communication ALP, août 2008