

## INTRODUCTION

Les aliments sont les composants essentiels des rations des animaux. Une alimentation adéquate des animaux permettra d'assurer non seulement les besoins d'entretien et de production mais aussi d'éviter les déséquilibres alimentaires qui peuvent induire des troubles métaboliques pouvant constituer un risque potentiel pour l'animal à titre d'exemple l'hypocalcémie, l'hypomagnésiémie, l'acidose et l'alcalose métabolique.

En effet, une meilleure connaissance de la composition chimique des aliments, de leur localisation dans les végétaux ainsi que de leur devenir dans le tube digestif des ruminants, pourraient informer les apprenants à mieux cerner l'alimentation et par conséquent leur indiquer comment établir une ration équilibrée pour l'animal où on pourrait éviter d'accumuler des pertes ou bien prévenir d'éventuelles carences.

Dans ce polycopié, nous avons essayé de décrire dans un premier chapitre les éléments qui composent l'aliment à savoir la matière sèche, l'eau, la matière minérale et la matière organique...etc. Et plus loin de décrire en détail tous les principaux constituants tels que les minéraux, les glucides, les matières azotées et les lipides...etc.

Dans le deuxième chapitre, nous avons mis le doigt sur les techniques d'analyses physicochimiques des aliments.

Les méthodes d'analyses décrites dans le présent document sont des techniques de références mandatées par l'AOAC. Nous avons essayé de décrire des techniques que nous avons utilisées au niveau d'un laboratoire de l'école vétérinaire de Léon-Espagne, consolidées par des photos personnelles pour orienter et aider les étudiants à comprendre les techniques mentionnées.

## Chapitre 1. Les constituants des aliments

### 1.1. Définition des aliments

Un aliment est une substance ingérée par les animaux et apportant tout ce qui est nécessaire comme énergie et nutriments à leur ration pour couvrir les besoins de l'animal pour son entretien et pour sa production. Un aliment unique est généralement incapable de faire face, seul, à l'ensemble des besoins nutritionnels pour l'entretien et les différentes productions. C'est la raison pour laquelle plusieurs aliments sont associés au sein d'une ration.

Les aliments seront caractérisés par les résultats de leurs analyses ainsi que par leur groupe d'appartenance chimique.

### 1.2. Les constituants des aliments

Tous les aliments sont constitués des mêmes composants comme le rapporte le tableau 1. Ces éléments sont : l'eau, la matière minérale, la matière organique (glucides, lipides, matières azotées et vitamines).

#### 1.2.1. L'eau

L'eau représente un pourcentage très variable selon les aliments:

- 78 à 92% dans les betteraves fourragères (8 à 22% de MS).
- 70 à 88% dans l'herbe verte (12 à 30% de MS).

Tableau. 1. Les composants de la matière organique, des glucides, lipides et des matières azotées des aliments (Delteil. 2004)

	Eau				H <sub>2</sub> O
Matière Brute	MS	MM		Macro éléments	Calcium, phosphore, magnésium, potassium, sodium, chlore, soufre
				Oligo éléments	Manganèse, zinc, cobalt, iode, sélénium
		MO	Glucides	Cytoplasmiques	-Pentoses (riboses, désoxyribose), -Hexoses (glucose, fructose) -Saccharose : maltose, lactose, mélibiose. Fructosanes (polymère de fructose) -Amidon
				Pariétaux	-Cellulose, -Hémicellulose, -Substances pectiques -Lignine (composés phénoliques)
			Lipides	Lipides	-Glycérides

					-Stérols -Cérides
			Matières azotées	Matières azotées protidiques	-Acides aminés libres -Combinaison d'acides aminés (peptides, polypeptides, protéines)
				Matières azotées non protidiques	-Amides (urée) -Amines -Ammoniac -Bases azotées
			Vitamines	Liposolubles	-Vitamines des groupes A. D. E et K
				Hydrosolubles	-Vitamines des groupes B et C
*Le lactose est d'origine animale mais sa composition diholoside le rapproche des glucides					

- 50 à 80% dans les ensilages (20 à 50% de MS).

- 15 à 20% dans les foins et les graines (80 à 85% de MS).

Du fait de ces grandes variations, la comparaison de la valeur des aliments n'est possible qu'exprimée par kg de MS et non par kg de produit brut.

### 1.2.2. La matière sèche

La matière sèche est composée de la matière organique et de la matière minérale, obtenue par dessiccation de l'aliment. La matière sèche est le résidu sec.

La teneur des aliments en matière sèche peut-être la plus grande raison de variation dans la composition des aliments. Pour cela, les constituants chimiques et biologiques sont rapportés sur la base de la matière sèche.

#### 1.2.2.1. Les substances minérales ou matières minérales

Outre l'eau et les matières organiques (macronutriments), les aliments nous apportent également des matières minérales, parfois indispensables au bon fonctionnement de notre corps. Elles existent dans les aliments tantôt sous forme de sels libres, tantôt sous forme d'atomes combinés à des substances organiques.

Les matières minérales (MM), appelées également cendres, sont les résidus laissés après calcination de la matière sèche.

La masse qui a disparu lors de la calcination est appelée matière organique.

Les minéraux sont recommandés pour assurer les importantes fonctions organiques des animaux. Ils peuvent être :

- des composants structuraux, des organes et tissus, comme l'os et les dents,
- des éléments constituant les fluides du corps.

Les minéraux peuvent être des électrolytes et jouer un rôle physiologique important dans la pression osmotique, la balance acido-basique, la perméabilité de la membrane, la transmission nerveuse, la régulation des divisions cellulaires et dans leur différenciation.

Les minéraux peuvent également jouer le rôle de cofacteurs, coenzymes, qui participent dans beaucoup d'activités du corps.

Quelques minéraux peuvent également rentrer dans la composition de certaines hormones (NRC. 2005).

## A. Classification

Selon leur abondance, on distingue:

### A.1. Les macroéléments ou minéraux majeurs

Ce sont les minéraux nécessaires en grandes quantités, ce sont majoritairement le calcium, le phosphore, magnésium, le potassium, le sodium, le chlore et le soufre.

La localisation corporelle **du calcium et du phosphore** étant essentiellement osseuse, leur rôle le plus évident est dans la formation du squelette et des dents, où ils sont associés dans la substance minérale osseuse, une insuffisance absolue ou relative de ces deux éléments conduit aux troubles osseux bien connus, le rachitisme chez les jeunes, l'ostéomalacie ou l'ostéoporose chez les adultes.

- **Le calcium** extra-osseux représente une très faible part (moins de 1%) du calcium de l'organisme mais est cependant indispensable et intervient notamment dans la perméabilité des membranes cellulaires, dans la contraction musculaire, dans l'excitabilité neuro-musculaire (dont l'exagération provoque la tétanie), dans la coagulation du sang, dans diverses réactions enzymatiques...etc.

- **Le phosphore** est beaucoup plus abondant que le calcium dans les tissus mous et intervient dans la majorité des réactions biochimiques, en particulier pour tous les transferts d'énergie et donc dans l'utilisation des lipides et des glucides. Le phosphore est un constituant des acides nucléiques et des

phospholipides présents dans tous les tissus. Les hexoses phosphates interviennent dans le métabolisme des glucides et dans tous les processus fermentaires. Les phosphates jouent aussi un rôle important dans le maintien de l'équilibre acido-basique et dans le pouvoir tampon du rumen.

- En ce qui concerne **le potassium**, élément intracellulaire, **le sodium et le chlore**, éléments extracellulaires, leur rôle principal, réside dans la régulation de la pression osmotique cellulaire. Ils ont aussi de multiples autres fonctions : le potassium intervient dans la contraction musculaire et est antagoniste du calcium et du magnésium dans la régulation de l'excitabilité neuro-musculaire, le sodium entre dans des réactions d'échange et de transport membranaire, le chlore est un constituant de l'acide chlorydrique du suc gastrique.

- **Le magnésium**, dont les rôles dans la formation de l'os et dans l'excitabilité neuro-musculaire sont également très importants, est indispensable à une multitude de réactions enzymatiques.

- **Le soufre** est un constituant essentiel des acides aminés soufrés, cystine et méthionine, de vitamines et d'hormones, de la kératine...etc.

#### A.1.1. Les éléments minéraux dans les aliments

La concentration des minéraux dans les ressources alimentaires varient largement selon le type d'aliment et l'espèce végétale. La teneur des rations en minéraux peut être affectée par le type de production ainsi que par les pratiques de management. Le type du sol, le pH comme les pratiques de fertilisation et les conditions climatiques affectant la croissance et la maturité des plantes, peuvent diminuer la teneur des minéraux.

La biodisponibilité des minéraux présents dans les aliments est une considération importante dans l'établissement d'un régime adéquat.

Tous les fourrages verts ou conservés sont riches en potassium (plus de 15g par kg de matière sèche) tandis que seules les légumineuses et les crucifères sont très riches en calcium (plus de 10g/kg de MS). Les teneurs en sodium sont en général très faibles (moins de 0.5g/kg de MS) à l'exception de certaines espèces de graminées. Les éléments minéraux des fourrages sont surtout localisés dans les feuilles et leurs teneurs diminuent considérablement avec le stade de développement de la plante, notamment pour le phosphore.

Les céréales, et les graines dont sont issus les tourteaux, sont riches en phosphore (3 à 5 g/kg) et pauvres en calcium et en sodium (moins de 0.5/kg).

Plus de la moitié du phosphore des graines est combinée sous la forme de divers sels de l'acide phytique (acide inositol-hexaphosphorique), cette proportion atteignant 90% dans le cas des enveloppes très riches en phosphore (10g/kg). La composition minérale des graines est relativement constante et peu sensible aux variations des facteurs externes (climat, fertilisation).

Les aliments d'origine animale, c'est-à-dire le lait et surtout les farines de viande et de poisson, sont très riches en calcium et en phosphore.

## A.2. Les micro-éléments ou oligoéléments

Les éléments minéraux mineurs, par opposition avec les éléments minéraux majeurs qui font partie des structures tissulaires, sont retrouvés à des concentrations faibles dans le corps qui n'a besoin que de petites quantités et jouent un rôle catalytique dans les systèmes enzymatiques ou les hormones. Leur rôle est variable, depuis un effet ionique simple jusqu'à une association spécifique dans les « métallo-enzymes ».

Le déficit en oligo-éléments provoque le blocage ou la diminution de l'efficacité de différentes voies métaboliques. Si les blocages sont suffisamment profonds les symptômes cliniques sont évidents. En revanche les subcarences se traduisent par une diminution du rendement zootechnique et économique : les



animaux rentabilisent mal leur ration. Les lésions biochimiques sont relativement réversibles après le traitement adéquat.

Ce sont : le fer, le cuivre, le cobalt, le manganèse, l'iode, le zinc, le sélénium. Il y a 13 autres éléments qui sont considérés comme essentiels sous certaines conditions et pour certaines espèces d'animaux et qui sont représentés par le chrome, le molybdène, le nickel, le fluor, l'arsenic, le lithium, le rubidium,...etc. (Soltner. 2008 ; NRC. 2005).

#### A.2.1. Localisation dans les aliments

Le cuivre et le zinc sont présents dans les plantes sous forme de complexes anioniques de composition mal connue et extractible par un mélange éthanol-eau à 80% et par l'eau.

Une certaine partie des éléments est liée aux protéines et une autre partie est liée à ces métallo-protéines spécifiques (diverses oxydases pour le cuivre et anhydrase carbonique pour le zinc par exemple). Le molybdène et le cobalt sont surtout présents dans les feuilles sous une forme mal précisée. Le sélénium existe surtout sous-forme de sélénométhionine et à moindre degré dans des composés du type Se méthyl-sélénonium ou de l'acide sélénocystéique.

L'iode serait partiellement sous une forme inorganique (iodure ou liés aux protéines).

#### B. Les besoins des animaux en minéraux

Plusieurs éléments minéraux essentiels sont retrouvés en quantités suffisantes dans les rations typiquement ingérées par les petits ruminants. Par ailleurs, d'autres éléments, sont toujours déficitaires dans les rations et doivent être

complémentés pour optimiser les performances des animaux et les maintenir en bonne santé.

C'est pourquoi, seule la détermination des besoins des animaux en ces éléments n'est pas suffisante, elle est conditionnée aussi par les niveaux maximums tolérables (un seuil limite des minéraux, qui quand distribués pour une période définie de temps ne peut affecter les performances des animaux) (NRC. 2005).

### 1.2.3. La matière organique

La matière organique (MO) est la matière fabriquée par les êtres vivants (végétaux, animaux, champignons et autres décomposeurs dont les micro-organismes) .

La matière organique compose leurs organes (tige, coquille, muscles,...etc.). Elle compose la biomasse vivante et morte (nécromasse) au sein d'un cycle décomposition/biosynthèse où une partie de cette matière est fossilisée (charbon, pétrole, gaz), minéralisée ou recyclée dans les écosystèmes et agroécosystèmes.

Caractérisée par la présence de carbone, associée à l'hydrogène, à l'oxygène, parfois à l'azote, et à de petites quantités de phosphore et de soufre.

Les composants de la matière organique sont des glucides, des lipides et des matières azotées.

Les matières hydrocarbonées ou composés ternaires formés en majeure partie de carbone, d'oxygène et d'hydrogène (C, H, O). Ce sont:

- les glucides (sucre, amidon, cellulose).
- les lipides (matières grasses).

### 1.2.3.1. Les glucides

Les glucides sont des substances fournissant de l'énergie. Ils sont retrouvés dans les aliments et forment un large et diverse groupe de composés qui sont généralement: les monosaccharides (sucres simples comme aldopentose et aldohexose), les oligosaccharides (contenant 2 à 10 unités de sucres) liés par des liaisons glucosidiques et les polysaccharides (chaînes longues dont les unités de grand poids moléculaire comme la cellulose, hémicellulose, amidon et pectine). Parallèlement, ils peuvent être divisés en deux groupes: les glucides structuraux (fibres provenant des parois des cellules végétales) et les glucides non structuraux (sucres et amidon provenant du contenu des cellules végétales) (NRC. 2007).

#### 1.2.3.1.1. Classification

En alimentation animales, particulièrement chez les ruminants, il serait plus judicieux de classer les glucides selon leur localisation dans la cellule végétale, à savoir, des glucides pariétaux ou structuraux et des glucides cytoplasmiques.

- Les glucides pariétaux ou structuraux

Ce sont les constituants des parois des cellules végétales. On distingue les glucides proprement dit (polyosides) et les constituants non glucidiques qui leur sont associés (lignine). On dénombre 3 groupes de polyosides: la cellulose, les hémicelluloses et les substances pectiques.

- Les glucides cytoplasmiques (non structuraux)

Ces glucides sont contenus dans les cellules végétales et sont plus facilement digestibles.

Les glucides intracellulaires sont constitués de sucres hydrosolubles, de grains d'amidon et de fructosanes. Les sucres hydrosolubles représentent en général moins de 10% de la MS des aliments d'origine végétale, à l'exception de

quelques graminées ou (poacées) jeunes, des betteraves et de la mélasse qui en sont plus riches. Ils sont mis en réserve dans les plastes des cellules végétales (amiloplastes). Les fructosanes s'accumulent à la base des tiges des graminées (Drogoul. 2004 ; Soltner. 2008).

#### 1.2.3.1.2. La digestion des glucides et leur métabolisme dans le rumen

Le facteur clé influençant l'intensité et le modèle des fermentations ruminales est la nature des glucides, ces derniers forment la plus importante source d'énergie pour les microbes ainsi que pour l'hôte.

Les glucides solubles du matériel végétal, particulièrement les glucides simples sont rapidement métabolisés dans le rumen et entraînent fréquemment des fermentations à dominance propionique chez l'animal hôte.

L'amidon, glucide complexe, localisé principalement dans les vacuoles de la cellule végétale, est rapidement digéré dans le rumen bien que sa digestion soit moins rapide que pour les sucres simples.

L'augmentation de la distribution des glucides solubles a pour conséquence une intensification des fermentations, une augmentation de la synthèse de l'acide propionique et une augmentation de la synthèse des protéines microbiennes qui est conditionnée par un apport d' $\text{NH}_3$  dans le rumen. Cependant, la fermentation rapide des glucides solubles peut réduire également le pH du rumen au point où la fréquence des fermentations des glucides pariétaux est diminuée.

Par contre, les glucides pariétaux des végétaux sont plus lentement fermentés avec des fermentations acétiques dominantes.

Selon leur type, l'ultime destin des glucides végétaux est d'être dégradés en glucides constituants et puis fermentés en AGV via le pyruvate. Les AGV (acide

acétique, acide propionique, acide butyrique) comptent pour 50-70% de l'énergie digestible ingérée.

L'augmentation du rapport acide acétique/acide propionique dans le rumen, peut réduire l'efficacité de l'utilisation de l'énergie métabolisable (EM) et la production des protéines microbiennes. Quelques auteurs ont suggéré que quand ce rapport excède 3:1, la fourniture de l'énergie facilement disponible peut être considérée comme un facteur limitant la synthèse microbienne protéique.

La production protéique pour les microbes du rumen peut-être directement reliée à la concentration propionique du rumen.

#### 1.2.3.1.3. Fonctions et sources de glucides

Le rôle secondaire des glucides alimentaires est de fournir l'énergie en premier, à la population microbienne du rumen et deuxièmement à l'hôte. Un autre rôle moins évident des glucides est d'aider au maintien de l'environnement du rumen, qui est soutenu par la consommation des aliments fibreux.

Les polysaccharides structuraux forment le plus grand volume des glucides alimentaires chez les petits ruminants, consommant du fourrage ou des rations à base de fourrage. Cependant dans les systèmes intensifs, les rations riches en concentré sont fréquemment utilisées, et dans ces rations, l'amidon des graines de céréales fournit la majorité de l'énergie alimentaire. Les ruminants ingérant des fruits et des plantes avec une teneur élevée en contenu cellulaire et peu de glucides pariétaux vont avoir un profil glucidique plus élevé en monosaccharides et en amidon (NRC. 2007).

### 1.2.3.2. Les lipides

Les lipides que l'on retrouve dans l'alimentation se composent essentiellement (98%) de triacylglycérols et contiennent également des petites quantités de phospholipides et de stérols. Il existe quatre grandes familles d'acide gras : les acides gras saturés, monoinsaturés, polyinsaturés et trans. Les lipides sont des substances hydrophobiques, solubles dans les solvants organiques. Les principaux lipides qui jouent un rôle important dans la nutrition des animaux sont les acides gras. Par conséquent, la détermination de la teneur des acides gras dans un aliment, est une méthode préférable dans l'analyse des lipides.

#### 1.2.3.2.1. Digestion et métabolisme des lipides dans le rumen

Les lipides des aliments consommés par les petits ruminants, sont altérés dans le rumen avant même qu'ils ne soient disponibles au métabolisme.

L'étape initiale dans la transformation ruminale des lipides alimentaires est l'hydrolyse des liaisons esters par les enzymes lipolytiques microbiennes, pour libérer le glycérol et les acides gras libres. Le glycérol peut-être métabolisé par les microorganismes du rumen pour produire des AGV.

Lorsqu'ils sont libérés comme acides gras libres, les acides gras insaturés sont sujets à une biohydrogénation par les bactéries du rumen. Le produit de la biohydrogénation compte 18 carbones, qui est l'acide stéarique. Cependant, de l'hydrogénation résulte la formation d'isomères conjugués d'acide linoléique, linoléique et de nombreux isomères de l'acide oléique.

Beaucoup de facteurs sont liés à la biohydrogénation comme la maturité du fourrage, les espèces fourragères, les méthodes de production, la proportion du fourrage par rapport au concentré dans la ration et la teneur en nitrogène qui affectent le degré du métabolisme des acides gras alimentaires.

La nature des lipides synthétisés par les microorganismes du rumen est d'une grande importance, à cause de la contribution microbienne à la formation des composants des lipides disponibles pour l'animal hôte dans le digesta post ruminal. Il a été estimé qu'environ 30% des acides gras atteignant le duodénum proximal étaient d'origine microbienne. La néo synthèse des lipides par la population microbienne se déroule dans le rumen et les acides gras libres peuvent être incorporés dans les microorganismes au cours de la synthèse cellulaire. Cependant la fréquence de la néo synthèse des acides gras tend à diminuer quand la quantité des lipides exogènes s'élève.

#### 1.2.3.2.2. Les fonctions et sources des lipides

Les lipides ont trois fonctions basiques dans l'organisme : une fonction structurelle, une fonction de régulation et une autre nutritionnelle.

La fonction structurelle des lipides est de contribuer à la composition des membranes cellulaires. La fonction de régulation est liée aux hormones. Du point de vue nutritionnel, les lipides ont des valeurs énergétiques élevées en comparaison aux autres composés des aliments. Par ailleurs, ils représentent les plus importants réservoirs de stockage de l'énergie chez l'animal. Le principal rôle des lipides de la ration est de fournir à l'animal, une source énergétique concentrée.

Les ruminants obtiennent les acides gras à partir de la ration et à travers la néo synthèse. Dans les aliments, les acides gras sont présents sous forme de triacylglycérole ou bien ils font partie des composés lipidiques comme les phospholipides et les glucolipides. Les lipides qui prédominent dans les fourrages sont les phospholipides et les glucolipides et contiennent 50% d'acides gras alors que les lipides des graines contiennent de 70 à 80% d'acides gras contre 90% d'acides gras dans les graines oléagineuses.

Le tissu adipeux des animaux qui ne sont pas en lactation est le principal site de synthèse des acides gras alors que le site prédominant de la néo synthèse des acides gras, se localise dans la glande mammaire chez les animaux en lactation.

La néo synthèse des acides gras peut-être altérée par la nutrition, le stade physiologique de la production (et par le manque de l'approvisionnement en acides gras alimentaires).

#### 1.2.3.2.3. Valeur alimentaire des lipides

Quand les lipides sont ajoutés, l'énergie disponible pour le métabolisme est de 85-90% de l'estimation théorique.

Il y a une baisse attendue dans la valeur énergétique associée avec la réduction de la digestibilité intestinale des acides gras quand le niveau des lipides complémentés augmente.

L'addition des lipides dans la ration peut exercer des actions antimicrobiennes, affectant par conséquent, les fermentations ruminales et la digestibilité de la ration.

La digestibilité des glucides structuraux diminue d'environ 25% chez les animaux ingérant 25% de lipides ajoutés.

Les lipides sont des composés très énergétiques. La complémentation de la ration avec 3.9% fournirait 9 fois plus d'énergie en comparaison avec les autres rations témoins.

Néanmoins, l'effet négatif des lipides sur les fermentations ruminales, limitent leur incorporation dans les rations des ruminants à 16-20% de l'EM.



### 1.2.3.3. Les matières azotées

On suppose que toutes les matières azotées comportent 16 % d'azote. La teneur en azote de l'aliment donnée par la méthode de Kjeldal est multipliée par  $100/16 : N \times 6,25$ . Les MAT comprennent les Matières Protéiques Brutes (MPB) et les Matières Azotées non protéiques. C'est une méthode d'appréciation de la qualité de la plante. D'où la nécessité d'aborder les matières protéiques et les matières azotées non protéiques quand on veut parler de la valeur protéique des aliments.

Les ruminants ont la capacité de synthétiser des protéines microbiennes dans le rumen à partir des matières azotées non protéiques et à partir d'une partie des protéines alimentaires et de leur métabolisme azoté (NRC. 2007).

#### 1.2.3.3.1. Classification

##### - Les constituants non protéiques

Les constituants azotés non protéiques, extraits au laboratoire par l'éthanol à 80% puis de l'eau, sont situés dans les vacuoles des cellules vivantes. Ils sont abondants dans les tissus conducteurs de l'appareil végétatif ainsi que dans les racines. Ils représentent 15-25% des fourrages verts.

Ce pourcentage est plus élevé dans les tiges que dans les feuilles, dans les légumineuses plus que dans les graminées. Ce sont surtout des amides et des acides aminés libres en général non indispensables mais aussi des amines et des nucléotides.

L'une des caractéristiques des matières azotées non protéiques est de diffuser très rapidement dans le rumen. Ce sont avec l'urée endogène, les sources azotées les plus rapidement disponibles pour la population microbienne. Dans le rumen, sous l'action de la flore microbienne, elles vont être dégradées en ammoniac (Fauconneau. 1960 ; Jarrige. 1980).

- Les constituants protéiques

Les protéines des fourrages verts sont localisées pour l'essentiel dans les cellules chlorophylliennes.

On distingue : Les protéines insolubles, présentes dans les membranes de la cellule ou des organites associés à elles.

- Les protéines solubles, présentes dans le cytoplasme et à l'intérieur du chloroplaste. Ces protéines vont passer en solution dans le liquide du rumen dès que la membrane de la cellule a été rompue par la mastication ou par les enzymes cellulolytiques.

Il existe aussi dans certaines espèces fourragères, des protéines liées à des composés phénoliques qui les protègent de la dégradation microbienne. Les fermentations protéiques dans le rumen sont également influencées par le mode de récolte et de la conservation des fourrages verts.

Les céréales sont caractérisées par 4 groupes de protéines selon leur solubilité.

- Les albumines et les globulines solubles dans les solutions salines diluées. Ce sont principalement des protéines cytoplasmiques ou métaboliques.
- Les prolamines et les glutamines, insolubles dans ces solutions, sont les protéines de réserve accumulées dans l'albumen et destinées à nourrir l'embryon et la plantule. Elles représentent la plus grande proportion du grain, 90% du blé et du maïs, 80% de l'orge.

Concernant les légumineuses, les protéines de réserve sont surtout constituées par des globulines solubles localisées dans les cotylédons.

La dégradation accrue des protéines métabolisables peut être limitée par le tannage ou le traitement à l'aldéhyde (formol) qui protège ainsi les protéines de la désamination dans le rumen.

- La digestion et le métabolisme des protéines chez les ruminants

Chez les ruminants, la digestion des matières azotées se déroule en premier lieu dans le rumen : le rumen est en effet, le lieu de dégradation des matières azotées et de synthèse des protéines microbiennes.

1<sup>ère</sup> étape de dégradation : les matières azotées non protéiques et une partie des protéines (métaboliques) vont subir une dégradation et se transformer principalement en ammoniac  $\text{NH}_3$  par les enzymes de la microflore.

Une partie des protéines qui ne peuvent être dégradées par les enzymes microbiennes (protéines insolubles) passent directement dans l'intestin grêle sous forme de protéines digestibles alimentaires intestinales.

2<sup>ème</sup> étape de synthèse : à partir d'une partie des glucides de l'ammoniac issu de la dégradation microbienne, les microorganismes vont synthétiser leurs propres protéines. L'ammoniac en excès est absorbé à travers les parois du tube digestif avec deux destinations. Une partie recyclée dans la salive et qui retournera dans le rumen. Une autre partie sera recyclée en urée par le foie et éliminée dans les urines donc perdue.

La digestion des matières azotées se poursuit dans l'intestin grêle.

L'objectif dans la couverture des besoins protéiques des ruminants est d'optimiser les contributions des protéines microbiennes et alimentaires qui échappent à la dégradation microbienne pour fournir les acides aminés disponibles.

Historiquement les protéines brutes (PB) et les protéines digestibles étaient utilisées pour exprimer les besoins protéiques des petits ruminants. Actuellement, le système des protéines métabolisables est désigné comme étant la méthode la plus appropriée pour définir les besoins des animaux en protéines.

Les protéines digestibles intestinales (PDI) sont définies comme des protéines incluant des protéines microbiennes (PDIM) et des protéines alimentaires (PDIA) qui sont digérées dans l'intestin grêle et à partir desquelles les constituants des acides aminés sont absorbés dans l'intestin. Des contributions mineures à partir des protéines endogènes (cellules épithéliales) peuvent être notées mais elles ne sont pas toujours considérées dans les systèmes des protéines digestibles.

Il est à noter que le plus important facteur influençant la synthèse des protéines microbiennes sera la disponibilité de l'énergie ou de la matière organique.

#### 1.2.3.4. Les vitamines

Une vitamine est une substance organique, nécessaire en faible quantité au métabolisme d'un organisme vivant, et qui ne peut être synthétisée en quantité suffisante par cet organisme. Les vitamines sont des compléments indispensables aux échanges vitaux. Elles ont des fonctions diverses participant dans beaucoup de processus métaboliques, de fonctions immunitaires des cellules et dans la régulation des gènes. Une carence d'une vitamine peut provoquer des signes cliniques spécifiques et des symptômes de déficiences subcliniques peuvent subvenir dans lesquels les symptômes ne sont pas évidents. Mais la productivité animale ou l'état de santé est moindre.

##### 1.2.3.4.1. Classification des vitamines

La classification traditionnelle des vitamines dépend de leur solubilité dans les lipides ou dans l'eau.

- Les vitamines liposolubles sont associées aux lipides dans les aliments. Elles sont absorbées dans l'intestin grêle par des mécanismes similaires à ceux intervenant dans l'absorption des acides gras à longues chaînes.

Elles sont stockées dans des quantités appréciables dans l'organisme:  
Ce sont les vitamines : A, D, E, K.

- Les vitamines hydrosolubles ne sont pas associées avec les lipides et les altérations dans l'absorption des lipides n'affecte pas leur absorption: et la plupart du temps elles ne peuvent être stockées en quantités suffisantes dans l'organisme et les excès sont rapidement excrétés. Ainsi une complémentation continue des vitamines hydrosolubles est nécessaire pour éviter les carences. Les vitamines hydrosolubles ne sont relativement pas toxiques, mais les excès des vitamines A et D peuvent causer de sérieux problèmes: Ce sont les vitamines du groupe B (thiamine, riboflavine, niacine, acide pantothénique, B12, choline) et la vitamine C.

#### 1.2.3.4.2. Les besoins des petits ruminants en vitamines

Les petits ruminants ont des besoins physiologiques en vitamines. Cependant, une ration ne doit pas contenir toutes les vitamines. Quelques vitamines sont considérées comme essentielles pour le métabolisme, mais pas obligatoirement importantes dans le régime alimentaire, puisqu'elles peuvent être synthétisées en quantités suffisantes couvrant les besoins physiologiques des animaux. Les vitamines A et E sont les seules vitamines devant être apportées par la ration. Les besoins en vitamines A et E peuvent être assurés par les formes injectables. Cependant, beaucoup d'aliments contiennent des vitamines A et des vitamines E, et elles peuvent dans beaucoup de situations ne pas être ajoutées.

La vitamine D est synthétisée avec les rayons UV dans le matériel végétal et dans la peau des animaux.

#### 1.2.3.4.2. Les besoins des petits ruminants en vitamines

Il est à noter que dans les systèmes d'élevage où les animaux sont confinés, ne sont pas suffisamment exposés au soleil et ne sont pas nourris avec du fourrage vert frais, leur besoin en vitamines peut s'accroître d'où la nécessité de compléter leur ration en vitamines A, D et E.

A l'exception de quelques conditions spécifiques, et quand les petits ruminants montrent un bon fonctionnement du rumen, leurs besoins en vitamines B et K sont naturellement couverts par leur alimentation. Les vitamines synthétisées par les microorganismes symbiotiques comme la vitamine C qui est synthétisée à partir de l'acide gulonique à l'intérieur des cellules du corps des petits ruminants. Les besoins vitaminiques du petit ruminant nouveau-né sont assurés uniquement par la ration. La flore ruminale peut contribuer à fournir des quantités significatives de vitamine du groupe B à partir du 8<sup>ème</sup> jour, lorsque le rumen devient complètement fonctionnel. Alors que la vitamine C ne peut être synthétisée en quantité suffisante qu'à partir de la 3<sup>ème</sup> semaine.

## Chapitre. 2. Analyses physicochimiques des aliments

### 2.1. Principes généraux

Le choix de la méthode d'analyse doit tenir compte de la nature des résultats recherchés. On doit connaître les caractéristiques de performance "interne" d'une méthode analytique pendant la période considérée lorsqu'on l'utilise sur des substances à analyser.

Toute méthode analytique utilisée sur des substances à analyser doit être appliquée de manière cohérente et accompagnée de procédures de contrôle de la qualité. Ainsi, toute analyse utilisant une méthode sur des substances à analyser doit avoir fait la preuve de sa compétence en la matière pendant la période considérée.

Il doit y avoir des preuves documentaires que chacun de ces principes est observé avant de choisir une analyse donnée pour ensuite procéder à la première étape de l'analyse et qui sera la prise de l'échantillon et sa préparation.

#### 2.1.1. Choix de la méthode

L'analyse des aliments peut être demandée pour toutes sortes de raisons - par exemple:

Toutes les méthodes d'analyse donnent des résultats présentant un certain degré d'incertitude, qui doit être pris en compte lorsqu'on choisit la méthode à utiliser à une fin particulière. Cette incertitude peut avoir des incidences importantes lorsqu'une concentration donnée d'une substance constitue un niveau d'intervention.

### 2.1.2. Spécifications en matière de performance

Les méthodes doivent être choisies sur la base de leurs performances compte tenu des spécifications convenues. Les principales spécifications techniques sont les suivantes:

- Précision: absence d'erreur systématique, étroitesse de l'accord entre les résultats de plusieurs dosages et la valeur "vraie", en particulier lorsqu'ils sont proches de la concentration qui déclenche une intervention - ou, pour une enquête, lorsqu'ils sortent de la fourchette des concentrations prévues.
- Fidélité: étroitesse de l'accord entre les dosages indépendants répétés concernant une même substance, en particulier à des concentrations proches de celles qui déclenchent une intervention - ou, pour une enquête, dépassent la fourchette des concentrations attendues.
- Sensibilité: modification de la réponse par unité de concentration - généralement spécifiée aux concentrations proches du niveau d'intervention.
- Spécificité: mesure dans laquelle d'autres substances (connues) peuvent donner lieu à un signal parasite.
- Champ d'application: gamme de matrices auxquelles s'appliquent les caractéristiques de performance.
- Propriétés pratiques: gamme d'utilisation, pertinence.
- Fiabilité: solidité, non-dépendance relative à l'égard des compétences de l'opérateur.

D'autres caractéristiques doivent être prises compte, ce sont la simplicité, la rapidité et le coût.



### 2.1.3. Méthodes de référence

Elles peuvent être spécifiées par les autorités réglementaires à des fins de mise en application ou être stipulées par des organisations commerciales en vue du règlement des différends. Elles ont subi des essais interlaboratoires poussés et leurs caractéristiques de performance sont bien documentées. La fidélité de ces méthodes (c'est-à-dire l'accord entre les résultats obtenus à des moments différents ou par des analystes différents ou dans des laboratoires différents) est très importante. Parfois, ces méthodes ne sont pas strictement précises, c'est-à-dire qu'elles peuvent être sujettes à une erreur systématique qui entraîne un résultat erroné - mais qui s'appliquent à tous les laboratoires de la même manière et ne compromettent pas la comparaison interlaboratoires des résultats. Ou bien il peut y avoir des procédures qui donnent un résultat dépendant d'une méthode pour une substance alimentaire non caractérisée, par exemple les fibres alimentaires. Leur caractéristique la plus importante est leur aptitude à donner des résultats comparables dans n'importe quel laboratoire compétent.

Dans ces cas, la méthode doit être spécifiée de manière très précise et suivie scrupuleusement. Tout écart de la méthode prescrite peut donner lieu à une erreur systématique, laquelle entachera d'un biais tous les résultats de cette analyse.

### 2.1.4. Méthodes officielles

Elles peuvent elles aussi être stipulées par des organisations commerciales ou par des autorités réglementaires et sont considérées comme des méthodes qui peuvent être utilisées quotidiennement pour les travaux ordinaires. Elles auront fait l'objet d'un grand nombre d'essais comparatifs interlaboratoires et bien qu'elles ne donnent généralement pas les mêmes caractéristiques de performance et de qualité que les méthodes de référence, elles sont plus

rapides, plus pratiques et moins coûteuses et elles ont une fidélité et une précision suffisantes pour la plupart des substances à analyser. Elles doivent assurer un accord acceptable avec la méthode de référence concernant la valeur "vraie" du paramètre mesuré, en particulier lorsque celui-ci est proche d'un niveau d'intervention. Lorsqu'un résultat particulier risque d'être remis en question, la substance doit faire l'objet d'une nouvelle analyse par la méthode de référence.

#### 2.1.5. Méthodes courantes du laboratoire

Il peut s'agir de méthodes d'analyses qui ont été mises au point à l'intérieur du laboratoire; bien que certaines soient nouvelles, elles sont le plus souvent fondées sur une méthode officielle qui a été simplifiée de manière à être plus facile, plus rapide, plus économique, plus avantageuse à utiliser. Elles n'ont généralement pas fait l'objet d'essais interlaboratoires mais ont fait la preuve de leurs caractéristiques de performance (hormis la reproductibilité) qui sont comparables à celles de la méthode officielle. Comme les autres méthodes habituelles, elles doivent être en étroit accord avec la méthode de référence en ce qui concerne les valeurs proches de la concentration d'alerte et si un résultat risque d'être remis en question, il faut utiliser la méthode de référence pour conduire une nouvelle analyse.

#### 2.1.6. Méthodes de tri

Lorsqu'on prévoit que la majorité des substances à analyser ne contient pas la substance recherchée à des concentrations qui susciteront un intérêt ultérieur, une méthode de "tri" peut être utilisée pour repérer les quelques échantillons qui méritent un examen plus poussé. Souvent, ces méthodes reposent sur une technique tout à fait différente de celle utilisée dans la méthode de référence. Une méthode de tri est rapide, simple, solide et pratique pour le nombre

(habituellement) très restreint de matrices auxquelles elle doit être largement appliquée et comme son nom l'indique, elle permet de manière très fiable de faire la distinction entre quelques substances dans lesquelles la concentration de l'élément recherché peut être voisine d'une teneur justifiant une intervention, et un grand nombre d'autres où cette concentration est éloignée.

A juste titre, les caractéristiques de performance qui permettent de juger qu'une méthode de tri produit des résultats de qualité sont différentes de celles utilisées pour une méthode de référence.

## 2.2. Méthodes de préparation et de prélèvement des échantillons

La préparation de l'échantillon et le prélèvement de la portion servant à l'analyse sont les deux premières étapes d'une analyse physico-chimique. Ces étapes sont importantes pour la réussite d'une analyse, car l'exactitude du résultat en dépend. Les techniques qui seront utilisées lors de ces étapes devront permettre de respecter le principe suivant:

L'aliquote prélevé pour l'analyse doit être le plus représentatif possible du lot

### CHAÎNE DE PRÉLÈVEMENT

LOT

ÉCHANTILLON

SOUS-ÉCHANTILLON

ALIQUOTE

(Analyse physico-chimique)

Lot: ensemble d'une production alimentaire ou d'une matière première

Échantillon: portion du lot prélevée au hasard ou selon des méthodes statistiques.

Sous-échantillon: portion de l'échantillon prélevée qui servira à la prise de l'aliquote.

Aliquote: appelé parfois la prise d'essai, c'est la portion de l'échantillon ou du sous-échantillon utilisée pour une analyse physico-chimique.

### 2.2.1. Principes généraux pour la préparation des échantillons

#### 1) Enlèvement des matières étrangères et des parties non comestibles

- lavage des fruits et légumes (sable, terre)
- enlèvement des os (viandes)
- enlèvement de la partie habituellement non consommée (fromage à pâte molle).

#### 2) Homogénéisation

##### Aliments liquides

- brassage par inversion, rotation ou transfert d'un récipient à un autre.
- brassage énergétique pour émulsification.
- enlèvement des gaz.
- décongélation complète d'un échantillon avant le prélèvement de l'aliquote.

##### Aliments solides

- découpage adéquat de l'échantillon (viande).
- broyage approprié (hache-viande, moulin à farine, malaxeur, appareil Stomaker, mortier, bêcher et spatule, râpe, etc ...).

#### 3) Prévention des altérations de l'échantillon

- altération physique ou chimique due à l'action de la chaleur.
- séparation de la matière grasse (lait cru).

- caramélisation (aliments sucrés).
- altération chimique au contact de l'air ambiant.
- oxydation par l'action d'O<sub>2</sub> (rancissement).
- modification de la concentration des constituants.
- absorption d'humidité par les aliments hygroscopiques.
- évaporation d'eau ou des constituants volatils d'un aliment.

N.B. Un gain ou une perte d'eau modifie la concentration de tous les constituants d'un échantillon alimentaire.

#### 4) Conservation des échantillons

- réfrigération ou congélation selon la nature de l'échantillon et le délai d'analyse.
- utilisation de contenants hermétiquement fermés.
- utilisation de préservatifs inhibant la croissance microbienne.
- exp: pastilles de bichromate de potassium K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> pour les laits crus.

#### 2.2.2. Principes généraux pour le prélèvement d'aliqotes

- s'assurer que l'échantillon est le plus homogène possible juste avant le prélèvement.

- pour le prélèvement d'un volume exact d'échantillon (résultat en % P/V):
  - tenir compte de la température, car la masse volumique d'un liquide varie en fonction de celle-ci. Le prélèvement s'effectue normalement à la température ambiante (20 °C).

- utiliser les instruments les plus précis (pipettes).

- pour le prélèvement d'une masse d'échantillon (résultat en % P/P):
  - procéder le plus rapidement possible pour la pesée d'un échantillon (solide ou liquide) qui perd facilement son humidité.

#### 2.2.2.1. Prélèvement par pesée directe de l'aliquote

Le récipient dans lequel doit être déposé l'aliquote pour effectuer l'analyse est placé sur la balance.

Exemple:

- Placer un plat d'aluminium sur la balance analytique et noter sa masse.
- Tarer le plat puis ajouter rapidement environ 2 ml de lait.
- Noter la masse de l'échantillon aussitôt que la balance affiche g.

#### 2.2.2.2. Prélèvement par pesée indirecte de l'aliquote

Le récipient dans lequel doit être déposé l'aliquote pour effectuer l'analyse n'est pas placé sur la balance, pour des raisons diverses (poids trop élevé du récipient, récipient trop volumineux, échantillon perdant rapidement son eau, impossibilité de transférer adéquatement l'aliquote directement dans le récipient,...etc.).

On place plutôt l'instrument servant à prélever l'aliquote sur la balance et on procède généralement par différence de poids. Exemple: Placer sur la balance analytique un support métallique et une pipette remplie d'environ 10 ml de lait. Noter la masse. Retirer la pipette et verser le lait dans un tube. Replacer la pipette sur le support et noter de nouveau la masse.

Les instruments de prélèvement sont:

- pipette.
- seringue jetable en plastique.
- compte-gouttes jetable.
- nacelle jetable, bûcher.
- cuillère graduée.
- pincette en métal.
- spatule.
- papier-filtre.

En conclusion, la technique utilisée pour le prélèvement de l'aliquote dépend de plusieurs facteurs:

- la nature de l'échantillon
- ses caractéristiques physiques (viscosité, produit hygroscopique, etc)
- le récipient dans lequel il sera placé
- la suite du protocole expérimental

## 2.3. Procédures analytiques

### 2.3.1. Teneur de la matière sèche

- Appareils

- une étuve, - une balance de précision.

- Procédure

Elle consiste à déterminer la teneur de l'échantillon en matière sèche.

#### 2.3.1.1. Teneur de la matière minérale

- Appareils

- un four à moufles.

- creusets en porcelaine.

- dessiccateur.

- balance de précision.

- Procédure

Les cendres sont le résidu des composés minéraux qui reste après l'incinération des échantillons contenant des substances organiques.

Les aliments pesés, sont mis dans un four à mouffles pendant 6 heures à 550°C, placés dans un dessiccateur jusqu'à ce que les échantillons aient atteint la température ambiante, puis pesés de nouveau. Cette valeur est la teneur de l'échantillon en matière minérale (AOAC. 1999).

La matière organique est la différence entre le poids de l'échantillon pesé avant et après son introduction au four.

### 2.3.3. La teneur en matières azotées

Les matières azotées sont déterminées selon l'AOAC.

La méthode de référence « Kjeldahl » est souvent adoptée pour la détermination des matières azotées dans les aliments.

La méthode Kjeldahl est effectuée en trois étapes :

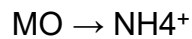
#### 2.3.3.1. Etape 1: Digestion ou minéralisation de l'échantillon

- Appareils et réactifs
  - unité de digestion et les tubes du digesteur.
  - acide sulfurique (98% M/M).
  - un catalyseur : 100 g de sulfate sodique, 5 g de sulfate de cuivre et 0.2 g de sélénium.



- Procédure

- 1 g de la matière sèche des aliments est introduit dans les tubes du digesteur après qu'il soit moulu dans un moulin traversant une mèche de 1mm.
- à l'échantillon, on ajoute 5g du catalyseur, plus de 14ml d'acide sulfurique.
- tous les tubes doivent être placés dans l'unité de digestion, soumis à une T° égal à 360°C, jusqu'à ce que la solution ait pris une couleur claire, puis laissé pour une heure de temps.
- 70ml d'eau distillée doit être ajoutée aux tubes ayants refroidis.



L'azote de l'échantillon se transforme en azote ammoniacal lors de la digestion avec l'acide sulfurique et un catalyseur.

#### 2.3.2.2. Etape 2 : Distillation de l'ammoniac

- Appareil et réactifs

- unité de distillation.
- solution d'acide borique à 4%.
- solution de méthyle rouge et de bleu de méthylène. Dissoudre 1.25g de rouge de méthyle et 0.825g de bleu de méthylène dans un litre d'éthanol à 90% (v/v).
- solution de sodium hydroxyde à 40% (p/v).
- acide sulfurique 0.2N.
- solution standard d'azote-ammoniacale 0.2N.

- Procédure

L'ammoniac libéré avec de l'hydroxide sodique dans la 1<sup>ère</sup> étape est récupéré pour la distillation du gaz.

- les tubes du digesteur sont placés l'un après l'autre dans l'unité de distillation.
- une solution d'NaOH est ajoutée en excès aux tubes.
- dans l'Erlen Meyer, est mis 25ml d'acide borique et une goutte du colorant pour recevoir l'ammoniac libéré.

#### 2.3.3.3. 3<sup>ème</sup> étape: Titrage de l'ammoniac

- Réactifs et appareils

- acide sulfurique à 0.2 N
- une burette.

Au cours de cette étape, la détermination volumétrique de l'ammoniac par titrage est effectuée.

Le titrage de l'ammoniac est effectué en ajoutant petit à petit une solution d'acide sulfurique à 0.2N jusqu' à ce que la couleur de la solution dans l'Erlen Meyer change du ver au pourpre.

- Calculs

La valeur du tube témoin est soustraite du volume obtenu de l'échantillon puis multipliée par la normalité de l'acide sulfurique et 0.014 et 6.25.

$$\text{MAT \%} = (V_{\text{échantillon}} - V_0) \times 0.2 \times 0.014 \times 6.25 \times 100 / \text{poids de l'échantillon.}$$

## 2.3.4. Dosage des fibres

### 2.3.4.1. Détermination de la teneur de la cellulose brute

- Réactifs

- eau déminéralisée.
- HCl 0,5 M D006 (pour un litre : 50 ml de HCl + 950 ml d'eau).
- acide sulfurique 0,13 mol/l.
- solution d'hydroxyde de potassium 0,23 mol/l.
- acétone.
- adjuvant de filtration (Célite ou équivalent).
- antimousse (n-octanol).
- éther de pétrole (point d'ébullition 40-60°C).

- Appareils

- balance analytique à 0,1 mg de précision
- creusets filtrants en verre robuste de 50 ml, avec un filtre en verre fritté de porosité 40-100  $\mu\text{m}$ . Avant la première utilisation, chauffer prudemment et graduellement le nouveau creuset filtrant pendant quelques minutes à 500°C. Refroidir.
- capsules d'incinération (en quartz).
- étuve électrique chauffée et ventilée, capable de maintenir une température de 130°C.
- dessiccateur contenant du silicagel.
- four à moufle à 500°C.
- système d'extraction à froid.
- système d'extraction à chaud pour la digestion acide et alcaline (fibertech. voir figure 1).

- Procédure

Peser à 0,1 mg près 1 g de l'échantillon préparé (m1). Transférer cette quantité au creuset filtrant et ajouter 2 g de Celite.

- Elimination du carbonate
  - à effectuer uniquement dans le cas où il y aurait plus de 50 g/kg de carbonate exprimé en carbonate de calcium.
  - connecter le creuset filtrant au système de chauffage. Laver l'échantillon 3 fois avec 30 ml d'acide chlorhydrique chaque fois.
  - Après chaque addition, laisser agir une minute avant de filtrer. Laver une fois avec 30 ml d'eau.

- Dégraissage

Connecter le creuset filtrant au système d'extraction à froid et laver l'échantillon 3 fois sous vide avec 30 ml d'éther de pétrole chaque fois. Sécher le résidu par succion après chaque lavage.

- Digestion acide

Connecter le cylindre d'ébullition au creuset filtrant. Ajouter quelques gouttes d'anti-mousse et transférer dans le cylindre 150 ml d'acide sulfurique bouillant. Amener à ébullition et bouillir vivement pendant 30 minutes.

- Première filtration

Couper le chauffage. Positionner la vanne vers le tuyau de vidange et, sous vide, filtrer l'acide sulfurique à travers le creuset filtrant et laver le résidu 3 fois avec 30 ml d'eau chaude.

Filtrer le résidu par succion après chaque lavage. S'il y a problème de filtration, refouler de l'air prudemment en sens inverse pour débloquer le filtre.

#### Remarque

Si la filtration avec les solutions acide et basique est difficile, utiliser l'air comprimé par le tuyau de vidange de l'unité de chauffage et continuer la filtration.

- Dégraissage

Connecter le creuset filtrant au système d'extraction à froid et laver le résidu sous vide avec 3 fois 30 ml d'acétone chaque fois. Tout de suite après, laver le résidu 3 fois sous vide avec 30 ml d'éther de pétrole chaque fois. Sécher le résidu par succion après chaque lavage.

- Digestion alcaline

Connecter le cylindre d'ébullition au creuset filtrant et rincer avec 30 ml d'eau chaude. Fermer la vanne de vidange. Ajouter quelques gouttes d'anti-mousse. Transférer 150 ml de solution d'hydroxyde de potassium bouillant dans le cylindre connecté au creuset filtrant. Porter rapidement à ébullition et bouillir vigoureusement pendant 30 minutes.

- Deuxième filtration

Couper le chauffage. Ouvrir la vanne du tuyau de décharge et filtrer la solution d'hydroxyde de potassium sous vide à travers le creuset filtrant. Laver le résidu avec 3 fois 30 ml d'eau chaude chaque fois. Sécher le résidu par succion, après chaque lavage. Laisser refroidir 5 minutes. S'il y a problème de filtration, refouler de l'air prudemment en sens inverse pour débloquer le filtre. Connecter le creuset filtrant au système d'extraction à froid et laver l'échantillon 3 fois sous vide avec 30 ml d'acétone. Sécher le résidu par succion après chaque lavage.

- Séchage

Pendant l'incinération ou le refroidissement, des parties de la plaque de filtre sortie du creuset, peuvent se décoller. Comme cela peut causer un résultat d'analyse incorrect, placer le creuset filtrant dans une capsule d'incinération. Sécher la capsule avec son contenu pendant au moins 2 heures dans l'étuve à 130°C. Laisser le creuset filtrant et la capsule d'incinération refroidir en dessiccateur. Immédiatement après l'avoir retiré du dessiccateur, peser le creuset filtrant et la capsule d'incinération à 0,1 mg près (m2).

- Incinération

Placer le creuset filtrant et la capsule d'incinération dans le four à moufle froid, monter à 500°C et incinérer son contenu pendant deux heures. Retirer le creuset filtrant et la capsule d'incinération et laisser refroidir. Quand ils ne sont plus que légèrement chauds, les placer dans le dessiccateur. Refroidir complètement et peser à 0,1 mg près (m3).

- Détermination du blanc

Effectuer un essai à blanc sans l'échantillon sur 2 g de Célite. La perte de poids résultant de la minéralisation ne doit pas excéder 4 mg (m0) (norme ISO 6865 : 2 mg).

- Calcul et rapportage

Calculer la teneur en cellulose brute de l'échantillon par l'équation :

$$Wf = (m2 - m3 + m0) * 100 / m1$$

Avec

- m0 : différence de masse de l'essai à blanc
- m1 : prise d'essai de l'échantillon (g)
- m2 : peser du creuset filtrant et de la capsule d'incinération après le dernier séchage (g).

#### 2.3.4.2. Détermination des teneurs en Fibres (FDN, FDA, lignine)

Les fibres au détergent neutre (FDN), les fibres aux détergents acides (FDA) et la lignine sont déterminées par la méthode de référence selon (Van Soest et al., 1991) et (Goering et Van Soest. 1970). Le principe de la méthode est de fractionner les fibres en plusieurs résidus dont on détermine la teneur par pesée.

- Réactifs et Appareils

- solution FDN.
- solution FDA.
- acide sulfurique.

- plusieurs appareils peuvent être utilisés (nous avons rapporté une analyses des fibres par une unité ANKOM voir figure).
- sacs en papier.

- Procédure

Les échantillons d'aliments préparés.

La détermination des fibres au détergent neutre est faite dans différents appareils, nous avons choisi la détermination des fibres dans un fibertech Ankom et la technique peut-être décrite comme suit :

- 0.5g de l'aliment moulu est mis dans un sac Ankom. Les sacs remplis d'échantillons sont placés dans l'appareil en plus de 2 litres de la solution au détergent neutre, durant une heure à 100°C.
- la solution FDN est drainée à travers une vanne. On effectue un double rinçage tout en agitant les sacs à l'intérieur de l'appareil par deux litres d'eau mélangée avec l' $\alpha$  amylase, pendant 4mn.
- les sacs Ankoms sont placés ensuite dans un Becher, rempli d'acétone pour évacuer toute l'eau de rinçage, placés par la suite dans une étuve pour séchage.
- une pesée des sacs est effectuée. Le résidu qui est obtenu constitue l'FDN (cellulose, hémicellulose, lignine). Cette teneur est déterminée en soustrayant au poids total composé des sacs+ le résidu 1, le poids des sacs Ankom pesés au début de l'analyse. La procédure de la détermination des fibres au détergent acide (FDA) et de la lignine est similaire à celle des FDN. La solution FDN est remplacée par : une solution FDA pour déterminer la teneur de l'FDA, le résidu obtenu est formé par la cellulose et la lignine.

Dans la dernière étape, l'acide sulfurique est mis dans l'appareil Ankom et le résidu obtenu est formé par la lignine.

### 2.3.5. Méthodes de dosage des lipides

Les lipides sont insolubles dans l'eau et très solubles dans les solvants organiques, tel l'éther éthylique. La plupart des méthodes de dosage des lipides exploitent ces propriétés physiques pour extraire les lipides des aliments dans le but de mesurer leur concentration.

#### 2.3.5.1. Méthode Soxhlet

La méthode Soxhlet est la méthode de référence utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments solides déshydratés. C'est une méthode gravimétrique, puisqu'on pèse l'échantillon au début et la matière grasse à la fin de l'extraction.

- Principe de la méthode

L'aliment solide est pesé et placé dans une capsule de cellulose. L'échantillon est extrait en continu par de l'éther éthylique à ébullition qui dissout graduellement la matière grasse. Le solvant contenant la matière grasse retourne dans le ballon par déversements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral. Comme seul le solvant peut s'évaporer de nouveau, la matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois l'extraction terminée, l'éther est évaporé, généralement sur un évaporateur rotatif, et la matière grasse est pesée.

- les capsules de cellulose sont perméables au solvant et à la matière grasse qui y est dissoute. Ces capsules sont jetables.

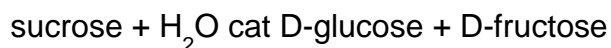
$$\% \text{ lipides} = \frac{M (\text{lipides})}{M (\text{échantillon})} \times 100 =$$



### 2.3.6. Méthodes de dosage des glucides

Il existe beaucoup de méthodes de dosage des glucides. Certaines de ces méthodes utilisent le pouvoir réducteur ou non réducteur des sucres. Un sucre réducteur doit posséder dans sa structure une fonction aldéhyde ou cétone libre.

Mélange en quantité égale de D-glucose et de D-fructose, obtenu par l'hydrolyse du sucrose.



#### 2.3.5.1. Méthode Lane-Eynon

La méthode Lane-Eynon est une méthode volumétrique de détermination des sucres réducteurs totaux dans les aliments. C'est une méthode empirique qui relie, à l'aide d'une table de conversion, une quantité de sucres réducteurs contenus dans un volume de solution alimentaire requis pour réduire un volume donné de réactif de Fehling.

- Principe de la méthode

La méthode est basée sur la capacité des sucres réducteurs à réduire l'hydroxyde cuivrique en oxyde cuivreux. On titre à chaud un volume donné de réactif de Fehling (10 ml ou 25 ml) à l'aide d'une solution de l'aliment contenant le ou les sucres réducteurs. L'indicateur Bleu de méthylène est utilisé pour rendre plus claire la disparition de la couleur bleue du réactif de Fehling (point de virage). Le volume de solution alimentaire utilisé pour le titrage est converti en mg de sucres réducteurs à l'aide d'une table de conversion.

- Quantités mesurables de sucres réducteurs

L'aliment doit être dilué de façon à ce que le volume de solution alimentaire utilisé pour le titrage corresponde à une quantité mesurable de sucres réducteurs.

On doit utiliser des colonnes de conversion spécifiques pour les aliments contenant un mélange de sucre inverti et de sucrose (SALHI)

## 2.4. La digestibilité

La prévision de la digestibilité de l'herbe pâturée par les ruminants a fait l'objet de très nombreux travaux depuis les années 1950. Ces derniers ont été analysés de manière critique dans plusieurs revues. Il existe diverses techniques pour prédire la digestibilité ; chacune présente ses avantages et ses inconvénients propres qui dépendent de l'espèce et du type de l'animal ainsi que de la nature et du mode d'exploitation de la prairie.

On peut estimer directement la digestibilité de l'herbe grâce à une mesure de digestibilité *in vitro*, *in sacco* ou encore à la pepsine/cellulase du bol oesophagien recueilli. Cette technique suppose toutefois des interventions chirurgicales et l'entretien des animaux porteurs de canules.

### 2.4.1. Mesure de la digestibilité

En alimentation animale, la digestibilité est un critère qui définit le degré auquel une matière organique est digérée par un animal. On distingue la digestibilité réelle de la digestibilité apparente.

La digestibilité apparente correspond à :

$$da = (\text{ingesta} - \text{fèces}) / \text{ingesta}$$

Avec *ingesta* : la quantité d'aliments ingérée, et les fèces, les excréments.

La digestibilité réelle :

$$dr = (\text{ingesta} - (\text{fèces} - \text{fèces endogènes})) / \text{ingesta}$$

Les fèces endogènes correspondent à des cellules de l'animal qui partent par desquamation, des enzymes, des bactéries du tube digestif, qui ne faisaient pas partie de l'aliment.

On définit ainsi le « coefficient d'utilisation digestive » (CUD).

- Facteurs de variations

La digestibilité est plus forte pour les constituants cellulaires, moins pour les parois des cellules végétales (qui constituent la cellulose brute, taux de CB figurant sur les étiquettes d'aliments). Chez les ruminants, la digestibilité des parois avoisine 80 à 90 %, cela est dû aux phénomènes de fermentation dans le rumen, qui permettent, grâce à la flore cellulolytique de digérer la cellulose. Cependant, la lignine (constituant du bois) reste indigestible (exception faite des termites).

Ainsi, la teneur en cellulose brute détermine la digestibilité des aliments. La dMO (digestibilité de la matière organique) baisse quand la teneur en parois augmente. Elle est meilleure chez les ruminants et espèces de grande taille (du fait de la longueur du tube digestif).

Il existe deux catégories de facteurs de variation :

- ceux liés à l'aliment : la teneur en parois (d'où l'intérêt de privilégier un rapport feuilles/tiges maximum pour l'exploitation des prairies), qui dépend aussi du stade d'exploitation des prairies (idéal : stade montaison, avant l'épiaison). La dMO est plus élevée pour les aliments concentrés, plus faible pour des aliments broyés fins (car la vitesse de transit dans le tube digestif est plus importante). On peut utiliser de l'ammoniac anhydre pour améliorer la dMO. Elle varie également selon la composition de la ration (un apport important de fourrage favorise la flore cellulolytique aux dépens de la flore amylolytique et donc améliore la digestibilité des fourrages), et le rythme de distribution des repas.
- ceux liés à l'animal : meilleure chez les ruminants et animaux de grande taille, faible chez le cheval car les phénomènes de fermentation ont lieu

dans les côlons et le cæcum, où les aliments ne restent pas assez longtemps pour permettre au cheval de bien les valoriser.

La digestibilité d'un aliment détermine sa valeur énergétique. On peut la prévoir en faisant des expérimentations *in vivo* en mettant un « mouton standard » dans une cage métabolique (on pèse l'aliment distribué, les refus pour obtenir la part ingérée, puis les fèces pour connaître la fraction digérée).

La technique de fermentation *in vitro* mise au point par Tilley et Terry permet de suivre la cinétique de la digestion des plantes fourragères. La digestibilité de la matière sèche obtenue après de courtes durées de fermentation (8 heures pour les fourrages verts, 24 heures pour les foin) est en relation avec les quantités ingérées. La précision de la prévision est du même ordre que celle obtenue par les auteurs ayant utilisé la digestibilité *in vitro* de la cellulose.

Le produit des digestibilités *in vitro* 48X heures et 2 4 heures X 48 heures permet de prévoir la quantité de matière organique digestible ingérée qui caractérise le mieux la valeur alimentaire des fourrages. La précision de l'estimation est meilleure pour les foin que pour les fourrages verts et pour les premiers cycles que pour les repousses. Elle est un peu moins bonne que celle permise par la méthode des sachets de nylon mais elle est aussi bonne que celle obtenue à partir de la digestibilité *in vivo* et de toute façon meilleure que celle obtenue à partir de la teneur en cellulose brute.

La valeur alimentaire d'un fourrage dépend de la quantité qui peut en être ingérée et de sa valeur énergétique, dont le meilleur critère est le coefficient de digestibilité de la matière organique.

De très nombreux chercheurs ont cherché à prévoir la digestibilité ; ils ont essentiellement utilisé des techniques chimiques et, depuis, des techniques de digestion *in vitro* par le jus de rumen.

2.4.2. Exemple de procédure de la mesure de la digestibilité *in vitro* dans des bouteilles en verre utilisée dans le laboratoire de la production animale-école vétérinaire de Léon, Espagne.

Les échantillons de chaque aliment et ration sont broyés à travers une mèche de 1 mm, et pesés précisément (500 mg) dans des bouteilles de sérum de 120-ml pour des incubations *in vitro*.

Le jus de rumen est obtenu à partir de rumen de moutons canulés alimentés *ad libitum* avec un fourrage de qualité moyenne.

Le contenu ruminal de chaque mouton est obtenu avant le repas du matin, mélangé et filtré à travers 4 couches de toile de fromage dans un Erlenmeyer. Les particules libres du fluide sont mélangés avec une solution tampon de Goering et Van Soest (1970) dans une proportion de 1:4 (v:v) à 39°C sous rinçage continu avec du CO<sub>2</sub>.

Les bouteilles sont préchauffées à (39°C) avant l'addition de 50 ml du jus de rumen tamponné à l'intérieur de chaque bouteille sous rinçage au CO<sub>2</sub>.

Les bouteilles sont hermétiquement fermées avec des bouchons en caoutchouc et des capsules en aluminium à 39°C pendant 24 h. Les bouteilles sont retirées de l'incubateur 24 h après.

La production totale de gaz est mesurée dans toutes les bouteilles en utilisant un transducteur à pression et une seringue calibrée, et des prélèvements de gaz (environ 15 ml) ont été effectués dans chaque bouteille et étaient stockés dans un tube sous vide à fin d'être analyser pour mesurer la concentration du méthane (CH<sub>4</sub>) ultérieurement.

Les bouteilles sont décapsulées juste après, et le pH peut immédiatement être mesuré. Les fermentations sont arrêtées en remuant les bouteilles dans de la glace. 1ml du contenu de la bouteille est ajouté à 1 ml d'une solution déprotéinisante (10% d'acide métaphosphorique et 0.06% acide crotonique p/v)

pour l'analyse des acides gras volatiles (AGV) et un 1 ml est ajouté à 1 ml d'HCl pour l'analyse de NH<sub>3</sub>-N.

Le jus de rumen est filtré à travers deux couches de gaz et mis dans des thermos séparés (pour chaque brebis). Un demi litre du liquide du rumen est retiré par brebis. En même temps, 6 litres du milieu de culture de Goering et Van Soest doivent être préparés au niveau du laboratoire. 1400ml du milieu de culture seront distribués dans les bouteilles et mis à l'intérieur de l'étuve.

La pression et le gaz peuvent être mesurés, en plus du méthane avant que les bouteilles ne soient ouvertes. Les AGV sont mesurés par gaz chromatographie comme suit :

Le méthane est mesuré en injectant 0.5mL de gaz dans un GC, chauffé à 200°C et équipé avec un détecteur à flamme ionisante et une colonne remplie de Carboxène 1000. L'Hélium est utilisé comme gaz porteur et les pics sont identifiés en comparaison avec un standard ayant une concentration de méthane connue.

La quantité d'AGV produite, peut être obtenue en soustrayant les quantités présentes dans le milieu d'incubation des autres quantités déterminées en fin de période d'incubation.

Pour la mesure de la digestibilité des principaux composés des aliments, les bouteilles seront vidées pour que leur contenu soit filtré. Les creusets contenant le résidu après fermentation sont placés à l'intérieur de l'étuve pour être pesés plus tard. La pesée des creusets est faite avec le matériel résiduel sec. Le résidu sec peut être pesé pour déterminer la matière sèche ayant disparu.

$MSd = MS \text{ de l'échantillon avant leur mise dans la bouteille} - MS \text{ du résidu sec}$

Pour déterminer la digestibilité des fibres, elle peut être faite en mettant le résidu sec après fermentation dans les sacs Ankom pour mesurer les FDN et les FDA disparues lors des fermentations.



Figure. 1. Moulin



Figure.2. Four à moufles



Figure. 3. Digesteur de l'appareil Kjeldahl



Figure. 4. Minéralisateur



Figure. 5. Fibertech





Figure. 6.7.8. Fibertech Ankom avec les sacs contenant l'aliment à analyser



Figure. 9. 10. Bouteilles avec aliments à fermenter



Figure. 11. 12. Bouchons en plastique et pourtour en métal

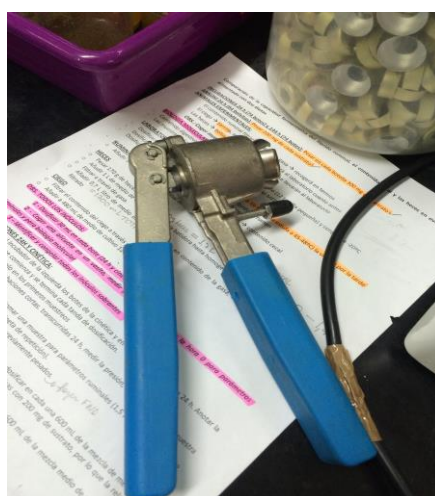


Figure. 13. Pincas pour la fermeture des bouteilles

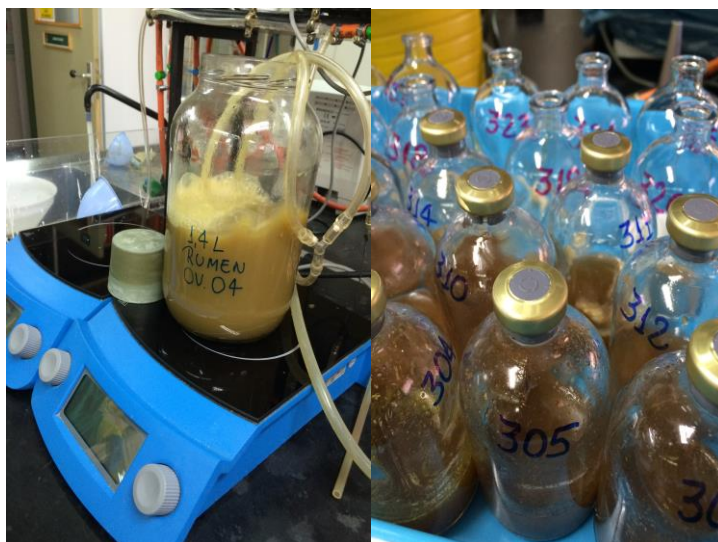


Figure. 14. 15. 16. Remplissage des bouteilles contenant des aliments par le jus de rumen et la salive artificielle et fermeture des bouteilles



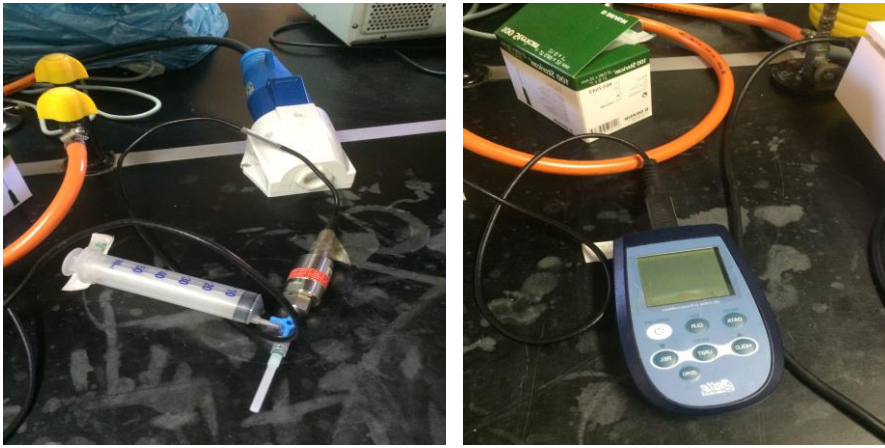


Figure. 17. 18. 19. 20 et 21 Incubation des bouteilles après 24h ouverture et filtration

## Références bibliographiques

- Ammerman C.B., Easley J.F., Arrington L.R., Martin F.G. 1966. Factors affecting the physical and nutrient composition of dried citrus pulp. *Proc. Florida State Hort. Soc.* 79:223-227.
- Ammerman C.B., Henry P.R. 1991. Citrus and vegetable products for ruminant animals. *In: Proceedings of the Alternative Feeds for Dairy and Beef Cattle Symposium*, St. Louis, MO, USA, pp. 103–110.
- Ammerman C. B., Baker D. H., Lewis A. J. 1995. Bioavailability of Nutrients for Animals: Amino acids, Minerals, and Vitamins. *Academic Press*, New York.
- A.O.A.C. 1999. Official Methods of Analysis. *16th ed. (5th rev.)* Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.
- Drogoul C., Gadoud R., Joseph M.M, Jussiau R., Lisberney M.J, Mamegoul B., Montméas L., Tarrit A. 2004 : Nutrition et alimentation des animaux d'élevage, éd. Educagri, tome 1, 269 p.
- FAO. <http://www.fao.org/docrep/t0845f/t0845f0c.htm#TopOfPage>
- Goering M.K., Van Soest P.J. 1970. Forage Fiber Analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agricultural Handbook*, n° 379. *Agricultural Research Services*, USDA. Washington DC, USA.
- Jarrige R. 1980. Alimentation des ruminants. Institut National de la Recherche Agronomique.
- Jenkins T.C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 76:3851–3863.
- NRC. 2005. Mineral Tolerance of Animals (2<sup>nd</sup> revised edition). National Research Council. *National Academy Press. Washington Press DC*.

NRC. 2007. Nutrient requirements of small ruminants. Sheep, goats, cervids and new world camelids. *National Research Council. National Academy Press.* Washington Press DC.

- Soltner. 2008. Alimentation des animaux domestiques Tome.1  
Les principes de l'alimentation pour toutes les espèces.

- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *In: J. Dairy Sci.*, 74. p. 3583-3597.

- Salghi, 26 Cours d'analyses physico-chimique des denrées alimentaires, GPEE, 1ère.