



LES ANALYSES FOURRAGÈRES

4. Fractionnement des parois cellulaires selon la méthode de Van Soest
5. Extraction des matières grasses selon la méthode Soxhlet

1. Dosage des parois cellulaires par la méthode de Van Soest (Van Soest *et al.*, 1991)

Cette technique gravimétrique repose sur l'extraction des constituants solubles de parois cellulaires dans des solutions détergents soit neutre (pour NDF) soit acide (pour ADF) et la pesée du résidu après séchage.

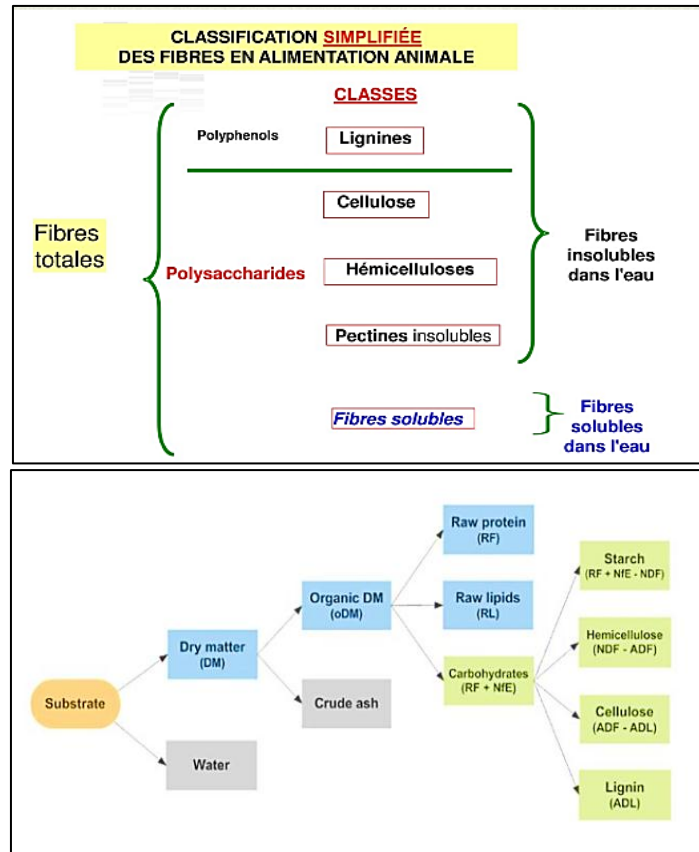
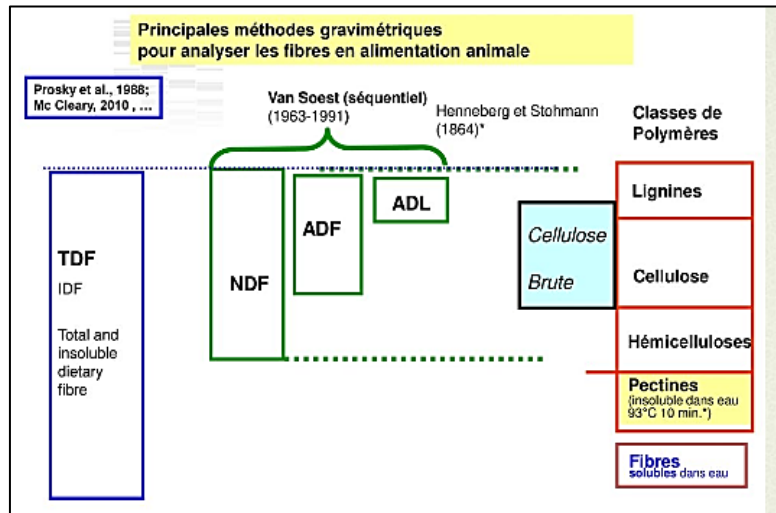


Figure : Classification des fibres alimentaires

- Les fibres neutres correspondent au résidu insoluble contenant la cellulose, hémicellulose et la lignine ou résidu des parois cellulaires (PC).
- Les fibres acides correspondent au résidu insoluble contenant la cellulose et la lignine ou lignocellulose (LC).
- La lignine est obtenue par attaque à l'acide sulfurique à 72% du résidu ADF et la pesée du résidu sec (ADL).
- Les résidus secs sont incinérés à 550 °C et les résultats exprimés par rapport à la matière sèche.



1.1. Préparation des détergents

1.1.1 Neutral Détergent Fiber (NDF)

Pour 1L de solution NDF, il nous faut:

- 18,61g de EDTA (di-sodium éthylène diamine tétra-acétate) ($C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 10H_2O$)
- 6,81 g de di-sodium tétra-borate ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$)
- 30 g de sodium lauryl sulfate ($C_{12}H_{25}OSO_3Na$)
- 10 ml d'éther monoéthylique ($C_4H_{10}O_2$)
- 4,56 g de di-sodium hydrogéné-phosphate anhydre (Na_2HP0_4)

Mettre l'EDTA et le di-sodium tétra-borate dans un bécher, ajouter une certaine quantité d'eau distillée et chauffez jusqu'à dissolution, après ajouter le sodium lauryl sulfate, d'éther monoéthylique et le di-sodium hydrogéné-phosphate anhydre. Porter jusqu'au trait (1000 ml) avec l'eau distillée chaude puis agiter vivement.

1.1.2. Acid Détergent Fiber (ADF)

Pour 1L de solution ADF, il nous faut:

- 20 g de CTAB (Bromure de Cétyl Tri-méthyl Ammonium : $C_{19}H_{42}BrN$)
- 30ml de H_2SO_4 concentré

Dans un bécher d' 1 litre, mettre le CTAB sur un agitateur magnétique pour assurer l'homogénéiser du mélange, puis ajouter l'acide sulfurique pur (l'ajout doit être fait délicatement dans le bécher préalablement mis dans un évier d'eau froide)

1.1.3. Acid Détergent Lignin (ADL)

On traite le résidu ADF avec l' H_2SO_4 à 72%

Appareillage :

- Analyseur semi-automatique (type Fibertec)
- Creusets filtrants

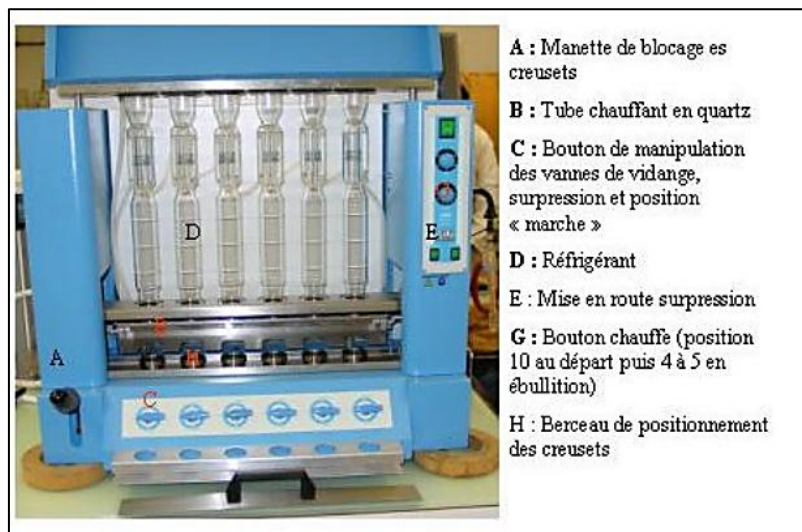


Figure : Fibertec Analyseur de fibres semi-automatique

Mode opératoire

- Peser avec précision de l'ordre de 1 g d'échantillon (séché et broyé à 1 mm) dans un creuset filtrant
- Procéder de la même façon décrite au cours de la méthode de Weende sauf que la quantité de la solution NDF est de 200 ml et que la durée d'attaque est d'une heure.
- Récupérer les creusets de l'NDF après leur séchage dans l'étuve à 105°C, leur pesée et les remettre dans le b cher du Fibertec contenant 200 ml de la solution ADF
- Après une heure d'extraction, laver les filtres contenant le résidu ADF avec de l'eau distillée en suite l'acétone.
- Séchage et pesée puis récupération du résidu ADF pour l'attaque à l'acide sulfurique pour

l'extraction du résidu ADL.

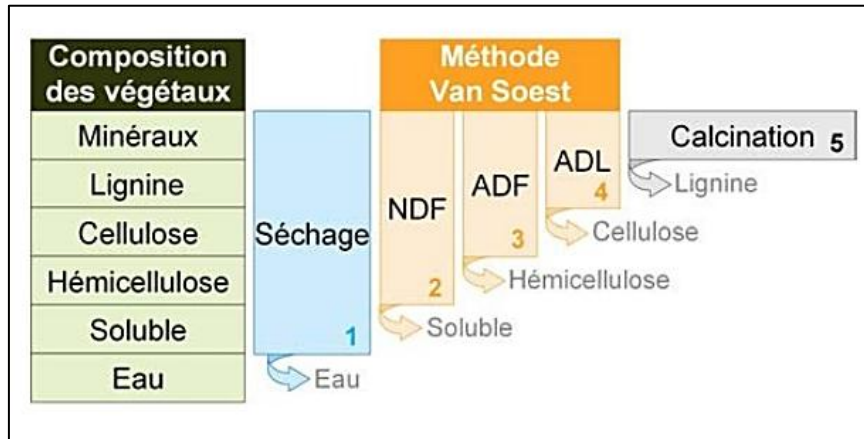


Figure : Procédure d'extraction des fibres alimentaires

- Une fois filtré et rincé à l'eau chaude puis à l'acétone, le résidu récupéré subit alors une attaque par l'acide sulfurique à 72 % et ce durant 3 heures à température ambiante. L'acide est mis directement dans les creusets tout en agitant fréquemment avec des baguettes en verre (les creusets mis dans un récipient en verre doivent être à 3/4 remplis d'acide).



Figure : extraction des fibres alimentaires

• Après cette opération, le résidu doit être de nouveau filtré puis rincé à l'eau chaude. Le creuset est séché à l'étuve à 105°C pendant 12 heures, pesé et enfin calciné à 450°C pendant 3 heures. (Goering et Van Soest, 1970 ; AOAC, 1990).

Expression des résultats

La teneur en NDF est ainsi calculée comme suit :

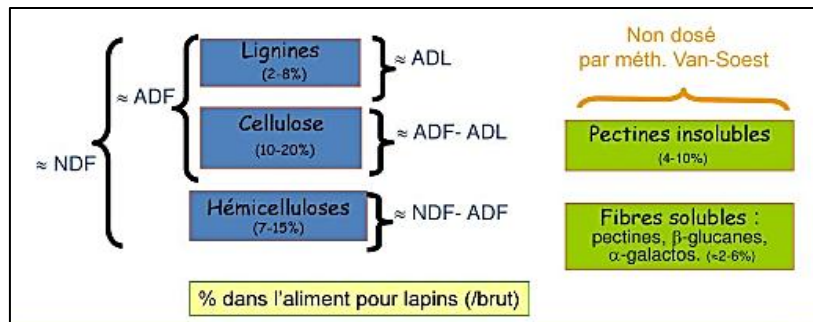
$$\% \text{ NDF} = ((P1-P2)/ PE \times MS_a) \times 100$$

P₁ : poids du creuset après séchage à 105°C (g)

P₂ : poids du creuset après calcination (g)

PE : prise d'essai (g)

MS_a: %MS_a /100.



La teneur en ADF est ainsi calculée comme suit :

$$\% \text{ ADF} = ((P1-P2)/ PE \times MS_a) \times 100$$

P₁: poids du creuset après séchage à 105°C (g)

P₂ : poids du creuset après calcination (g)

PE : prise d'essai (g).

MS_a: %MS_a /100.

$$\% \text{ Hémicelluloses} = \% \text{ NDF} - \% \text{ ADF}$$

La teneur en ADL est ainsi calculée comme suit :

$$\% \text{ ADL} = \% \text{ Lignine} = ((P1-P2)/ PE \times MS_a) \times 100$$

P₁ : poids du creuset après séchage à 105°C (g)

P_2 : poids du creuset après calcination (g)

PE : prise d'essai (g).

MS_a : $\%MS_a / 100$.

$$\% \text{ Cellulose} = \% \text{ ADF} - \% \text{ ADL}$$

2. Extraction des matières grasses selon la méthode Soxhlet ou Extraction continue de Soxhlet à l'éther ou extrait éthéré (EE)

Ce dosage consiste à réaliser une extraction continue à l'aide d'un appareil appelé Soxhlet en utilisant l'éther di-éthylique comme solvant (AOAC, 1990).

Réactifs : éther di-éthylique ou éther de pétrole.

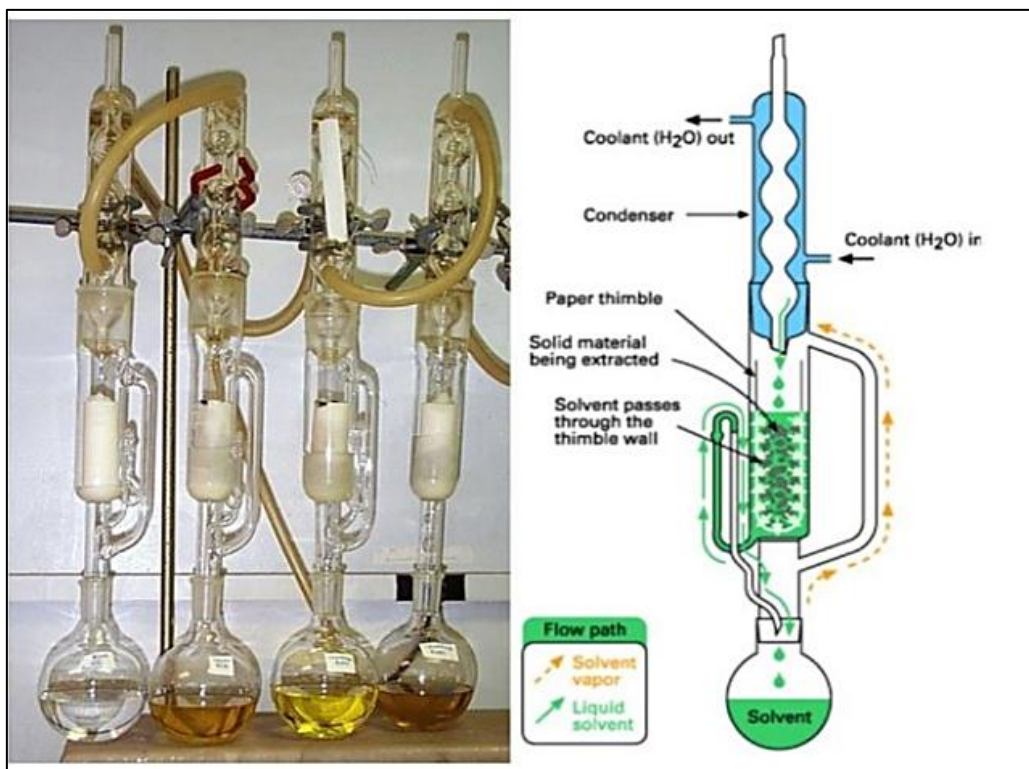


Figure : Diagramme de fonctionnement de l'appareil de Soxhlet

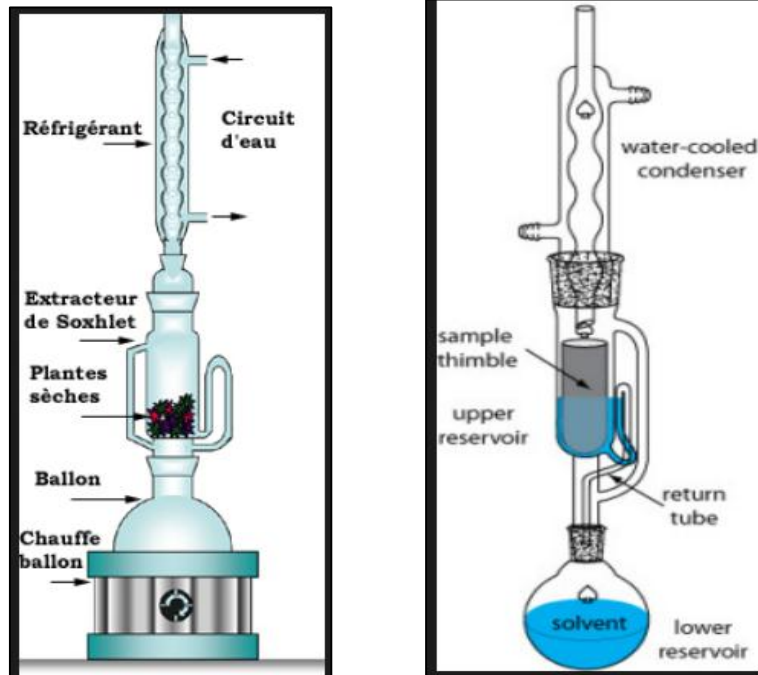


Figure : Principe de fonctionnement de l'appareil de Soxhlet

Appareillage

- Appareil de Soxhlet composé d'un ballon récepteur à col rodé et d'un réfrigérant à reflux permettant de condenser le solvant évaporé avant de tomber dans un extracteur qui est muni d'un système de siphonage permettant de transvaser l'éther dans le ballon. Cet extracteur doit héberger une cartouche en carton poreux dans laquelle est déposée la matière à extraire.
- Plaques chauffantes adaptées aux ballons récepteurs.



Figure : Appareil de Soxhlet

Mode opératoire

- Peser avec précision de 2 g d'échantillon séché et broyé à 1 mm dans une cartouche propre
- Mettre la cartouche avec son contenu dans l'extracteur (le bord supérieur doit être au-dessus du niveau du siphon)



Figure : Appareil de Soxhlet muni de cartouche

- Introduire 160 ml d'éther di-éthylique dans le ballon à col rodé préalablement taré
- Installer l'extracteur sur le ballon et mettre le tout au-dessous du réfrigérant
- Faire circuler l'eau dans les réfrigérants et allumer les plaques. Il faut noter qu'il est absolument nécessaire que l'appareil de Soxhlet soit bien protégé sous une hotte qui doit être loin de toute source de feu. L'éther est un solvant très volatil et rapidement inflammable.
- Arrêter l'ébullition quand le niveau de l'éther condensé dans l'extracteur est un peu au-dessous du niveau de siphon, retirer la cartouche soigneusement sans perdre les particules de l'échantillon et vider l'éther que contient l'extracteur. La durée d'extraction est de 8 h
- Remettre le tout en ébullition mais sans la cartouche pour recueillir le maximum d'éther dans l'extracteur. Il faut rapidement retirer le ballon muni de l'extracteur avant qu'il soit sec (avec un peu d'éther à l'intérieur) et ceci pour éviter non seulement les risques d'explosion, mais aussi les projections de l'éther dans le ballon et par conséquent la carbonisation de la matière grasse

- Sécher le ballon contenant l'extrait et le peu d'éther dans l'étuve 105°C durant une nuit (laisser la porte de l'étuve légèrement ouverte durant les 15 premières minutes)
- Peser le ballon après refroidissement (le refroidissement peut être fait à l'aire ambiante sauf que le ballon doit être muni de son bouchon).

Le pourcentage d'extrait étheré est ainsi obtenu comme suit :

$$\%MG = ((P_2 - P_1) / PE \times MS_a) \times 100$$

P₁ : poids du ballon vide (g)

P₂ : poids du ballon après séchage à l'étuve 105°C (g)

PE : prise d'essai (g).

MS_a : %MS_a/100.