DOCUMENTATION

Méthodes de dosage et valeur nutritive

Le Centre de Perfectionnement technique a organisé en avril et mai 1956, une série de cours-conférences destinés à faire le point des méthodes actuelles de dosage des glucides, des lipides, des protides et des vitamines hydrosolubles, envisagées en vue de la détermination de la valeur nutritive des aliments.

Bien que ces exposés aient un caractère un peu différent de celui des mises au point bibliographiques habituellement publiées dans les Annales de Zootechnie, il a paru opportun, en plein accord avec le Centre, de les insérer dans la partie documentaire des Annales, dont elles sont susceptibles d'intéresser vivement les lecteurs.

Les trois premiers exposés, ceux de MM. RERAT et CLEMENT et FAUCONNEAU sont publiés dans le présent fascicule. L'exposé de M. ADRIAN paraîtra dans le prochain fascicule.

N. D. L. R.

MÉTHODES DE DOSAGE DES GLUCIDES EN VUE DU CALCUL DE LEUR VALEUR ÉNERGÉTIQUE ⁽¹⁾

PAR

Alain RERAT

Assistant à l' I. N. R. A.
Laboratoire de Biochimie de la Nutrition

PLAN DU MÉMOIRE

- I. — Rappels sur la classification des glucides.**
- II. — Calcul théorique de la valeur énergétique des glucides.**
 - Définitions de diverses formes d'énergie des aliments.
 - Unités employées.
 - Chaleur de combustion des aliments.
 - Chaleur de combustion des déchets urinaires.
 - Chaleur de combustion des fèces.
- III. — Rappels sur la digestibilité des glucides.**
 - 1^o Omnivores monogastriques.
 - a) Glucides assimilables.
 - b) Indigestible glucidique.
 - 2^o Herbivores monogastriques et polygastriques.

⁽¹⁾ Cours Conférence donné à la Maison de la Chimie, le 9 avril 1956, sous les auspices du Centre de Perfectionnement technique.

IV. — Méthodes de dosage.

Introduction.

A) — Méthodes strictement chimiques.

1° Glucides physiologiquement utilisables.

- glucides réducteurs avant et après inversion.
- amidon.
- critique.

2° Dosage des pentosanes.

3° Dosage de la cellulose naturelle.

4° Dosage des éléments rattachés aux glucides.

- a) dosage de la lignine.
- b) dosage des composés pectiques.

5° Conclusions.

B) — Méthodes conventionnelles a application nutritionnelle.

1° Méthode par différence.

2° Extractif non azoté et « cellulose brute ».

Méthode de Weende.

Critique :

Difficultés opératoires.

Insuffisances d'ordre biochimique.

Critiques d'ordre nutritionnel.

3° Insoluble formique.

Conditions du dosage.

Critique.

4° Méthode d'Atwater.

V. — Choix d'une méthode. Application au calcul de la valeur énergétique des aliments.

1° Monogastriques omnivores.

2° Herbivores polygastriques et monogastriques.

VI. Conclusions.

Nous ne pouvons commencer cet exposé sans rappeler quelques notions élémentaires sur la constitution des glucides. Nous verrons ensuite comment la valeur énergétique des aliments a été calculée initialement et corrigée par la notion de digestibilité.

A la lumière de ces données, les méthodes de dosage usuelles des glucides seront envisagées sur le plan pratique : il n'est évidemment pas dans notre dessein de faire l'analyse de toutes ces méthodes qui sont extrêmement nombreuses.

Nous concluons par un essai de choix d'une méthode.

I. — RAPPELS SUR LA CLASSIFICATION DES GLUCIDES

Les glucides forment un groupe de substances naturelles et synthétiques, composées de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Ils ont été longtemps désignés sous le nom d'hydrates de carbone : dans la plupart

d'entre eux, en effet, l'hydrogène et l'oxygène se trouvent dans les mêmes proportions que dans l'eau : $C^n (H^2O)^m$. Ils comprennent essentiellement :

- des sucres simples réducteurs : les oses ;
- des sucres complexes : les osides dont l'hydrolyse libère un ou plusieurs oses.

Les oses sont eux-mêmes caractérisés par la coexistence, dans la même molécule, d'une fonction *réductrice*, aldéhydrique ou cétonique, et de plusieurs fonctions alcools.

A) Les sucres simples ou oses portent le nom d'aldoses ou de cétooses selon que la fonction réductrice est située en fin de chaîne ou sur un chaînon intermédiaire. Ils sont par ailleurs classés d'après le nombre d'atomes de carbone contenus dans la molécule.

B) Les osides sont subdivisés en : holosides et hétérosides.

— 1^o Holosides, si tous les produits d'hydrolyse sont des oses : ils sont classés suivant le nombre d'oses obtenus.

— 2^o Hétérosides, si les oses ne sont pas les seuls produits d'hydrolyse. La fraction non glucidique est nommée aglycone.

La classification du tableau I est la plus généralement adoptée bien qu'assez arbitraire.

TABLEAU I

Classification des glucides des aliments naturels.

Oses.

<i>Trioses.</i>	
(dioxycétone	trouvés au cours du métabolisme intermédiaire
(glycéraldéhyde	des glucides, n'existent pas dans les aliments.
<i>Tétroses</i>	ne se rencontrent dans aucun produit naturel.
<i>Pentoses</i>	
<i>d</i> -ribose et ribodésose.....	constituant des nucléoprotéides
<i>d</i> -xylose.....	tissu de soutien des végétaux sous forme de xylanes.
<i>l</i> -arabinose.....	gommes végétales sous forme d'arabanes.
rhamnose	dans les végétaux sous forme de glucosides.
fucose (galactométhylese).....	dans les algues.
<i>Hexoses</i>	
<i>d</i> -glucose (dextrose).....	3 aldohexoses et 2 cétohexoses présentent surtout un intérêt biologique.
<i>d</i> -mannose	aldohexose libre ou combiné (glucose-amine) dans les tissus animaux ou végétaux.
<i>d</i> -galactose.....	aldohexose rencontré surtout chez les végétaux sous forme de mannanes ; chez l'animal, partie du sucre « protéidique » de la sérumbumine.
<i>d</i> -fructose (lévulose).....	aldohexose constituant du sucre de lait (avec le glucose) : lactose constituant de lipides complexes : cérébrosides ;
<i>l</i> -sorbiose.....	chez les végétaux, sous forme de galactanes.
	cétohexose libre dans la plupart des végétaux ou combiné à d'autres oses ;
	constituant de l'inuline, polyholoside trouvé dans les végétaux.
	cétohexose libéré par oxydation du sorbitol, hexalcool contenu dans les fruits du sorbier.

*Osides.*A. — *Holosides.**Diholosides*

Saccharose	glucosido-4-fructose trouvé surtout dans la canne à sucre et la betterave.
Tréhalose	glucosido-4-glucoside.
Lactose	galactosido-4-glucose, sucre du lait.
Maltose	glucosido-4-glucose rencontré libre dans quelques végétaux, mais surtout produit d'hydrolyse de polysides (amidon, glycogène).
Cellobiose.....	glucosido-4-glucose, produit d'hydrolyse de la cellulose.

Triholosides

Raffinose	composé de galactose, glucose et fructose, trouvé dans la betterave.
Gentianose.....	composé de 2 molécules de glucose et une de fructose, trouvé dans les racines de gentiane.

Polyholosides

a) Pentosanes dont les sucres constitutifs sont des pentoses.

Xylanes.....	formés de xylose	trouvés dans les gomm.
Arabanes.....	formés d'arabinose.	

b) Hexosanes dont les sucres constitutifs sont des hexoses.

Mannanes	produits de condensation du mannose trouvés dans les réserves cornées de graines et les parois cellulaires.
Galactanes	produits de condensation du galactose entrant dans la constitution des gommés et mucilages, donnant par hydrolyse uniquement des molécules de glucose.
Glucosanes.....	forment les réserves glucidiques des végétaux.
Amidons	amidon animal, réserves glucidiques des animaux.
Glycogène	matière solide fondamentale des membranes cellulaires végétales.
Celluloses	donnant par hydrolyse uniquement des molécules de lévulose.
Levulosanes.....	forme les réserves glucidiques de certains végétaux (topinambour).
Inuline	(graminées)
Fructosanes	

c) Pento-hexosanes

Dérivés de l'acide polygalacturonique : matières pectiques.

B. — *Hétérosides.*

On les trouve surtout dans le monde végétal. Ils sont sans intérêt alimentaire.

Substances qu'on peut rattacher aux glucides :

- produits du métabolisme des sucres : acides lactique, pyruvique, citrique, malique, etc.
- lignine qui n'est pas un polysaccharide, mais sans doute un produit de condensation de dérivés saccharidiques allant de simples unités à des aggrégats complexes.

En ce qui concerne les glucides végétaux, une autre classification à caractère plus pratique, peut être employée.

D'après JARRIGE on peut distinguer :

A) *Les constituants de la membrane végétale :*

- 1° Complexe cellulosique formé de cellulose vraie et d'autres polysides (mannanes, galactanes et surtout xylanes).
- 2° Hémicelluloses polyuronides (pentoses et acides hexuroniques).
- 3° Substances pectiques dérivées de l'acide polygalacturonique.
- 4° Lignine.

B) *Les glucides cytoplasmiques :*

- 1° Sucres : glucose, fructose, surtout saccharose.
- 2° Fructosanes.
- 3° Certains glucosanes.

II. — CALCUL THÉORIQUE DE LA VALEUR ÉNERGÉTIQUE DES GLUCIDES

JOULE en 1842 découvrit l'équivalent mécanique de la chaleur et peu après, MAYER et HELMHOLTZ (1845) trouvèrent la loi de conservation de l'énergie. Cette loi est valable chez les animaux comme l'ont démontré, après LAVOISIER et LAPLACE, bien d'autres auteurs. Par la suite, RUBNER déterminait *in vitro* la chaleur de combustion de différents aliments, et comparait les résultats avec la chaleur fournie par les mêmes aliments lorsqu'ils sont utilisés dans l'organisme. Il s'est aperçu que, notamment en ce qui concerne les protides, ces chaleurs de combustion n'étaient pas les mêmes. Il faut, en effet, tenir compte de ce que :

1° Les aliments ingérés ne sont pas absorbés en totalité dans l'intimité de l'organisme et l'énergie rejetée dans les fèces n'est pas à négliger.

2° Pour certains composants de la ration (protides), le terme ultime de la dégradation métabolique est formé de corps plus ou moins complexes excrétés dans l'urine et dont la chaleur de combustion est relativement importante.

C'est pourquoi la valeur métabolisable des aliments, c'est-à-dire leur quantité d'énergie physiologiquement utilisable doit être calculée selon la formule :

Énergie métabolisable = Chaleur de combustion de l'aliment — (chaleur de combustion des déchets urinaires + chaleur de combustion des matières fécales).

Mais l'énergie métabolisable elle-même ne représente pas l'énergie utilisable pour couvrir les besoins d'entretien et de production : en effet, il y a des pertes au cours de l'utilisation de cette énergie dont la moindre, en particulier chez les herbivores, n'est pas l'énergie dépensée pour la consommation du repas. On est ainsi conduit à estimer la valeur énergétique des aliments selon quatre modalités :

— l'énergie brute déterminée à la bombe calorimétrique,

— l'énergie digestible = énergie brute diminuée de l'énergie contenue dans les fèces,

— l'énergie métabolisable : énergie brute diminuée de l'énergie de l'urine, des fèces et des gaz combustibles,

— l'énergie nette ou utilisable : énergie métabolisable diminuée de l'augmentation de production de chaleur provoquée par l'ingestion de nourriture.

Les unités employées sont :

En alimentation humaine : la Calorie qui est la quantité de chaleur nécessaire pour élever d'un degré la température d'un kilogramme d'eau (de 14° à 15°C).

En alimentation animale : les unités sont, tantôt des unités d'énergie

métabolisable (T. D. N. des Américains) ⁽¹⁾, tantôt des unités d'énergie nette : dans ce cas, on prend pour base de calcul la quantité d'énergie utilisable pour tel ou tel type de production animale (engraissement, production laitière, etc.). L'unité amidon (KELLNER) se réfère au kilogramme d'amidon ; l'unité fourragère, au kilogramme d'orge.

L'unité fourragère, valeur énergétique nette du kilogramme d'orge correspond à une quantité d'énergie métabolisable de 2 700 calories et à une quantité d'énergie nette valable pour l'engraissement de 1 650 calories. Elle représente 0,70 de l'unité amidon.

Soulignons que la différence essentielle est la suivante : la calorie, telle qu'elle est utilisée en alimentation humaine exprime l'énergie métabolisable, alors que les équivalents alimentaires (unité amidon, unité fourragère) traduisent l'énergie utilisable.

Reprenons un peu plus en détail en ce qui concerne les glucides les notions de chaleur de combustion des aliments, des déchets urinaires et des fèces.

Chaleur de combustion des aliments ou énergie brute.

La chaleur de combustion des glucides peut être mesurée soit en déterminant à la bombe calorimétrique la quantité de chaleur produite par une combustion complète, soit en évaluant au moyen de l'oxycalorimètre la quantité d'oxygène nécessaire à cette combustion.

Voici, pour quelques glucides simples, les chaleurs de combustion correspondantes :

Aliments simples	Cal/g. sec
Glucose	3,76
Saccharose	3,96
Amidon	4,23

Ces chiffres sont assez homogènes pour qu'une valeur moyenne ait été adoptée comme représentative du groupe glucide. Il en est de même pour les autres principes énergétiques.

On admet donc les chiffres suivants :

	Cal/g. Sec
Glucides	4,15
Lipides	9,40
Protides	5,65

Cependant, dans chaque catégorie, il existe d'assez fortes différences (par exemple glucose-amidon) qui proviennent de la chaleur d'hydrolyse. Quant aux acides organiques, le facteur moyen de 2,45 Cal par g est employé pour évaluer la valeur énergétique de la somme des acides citrique et malique qui représentent, grosso modo, la totalité des acides utilisables.

(1) T. D. N. = Total Digestible Nutrients = Principes digestibles totaux.

Chaleur de combustion des déchets urinaires.

En ce qui concerne les glucides, cette chaleur est nulle car ces corps sont entièrement catabolisés au stade ultime : $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$.

Chaleur de combustion des fèces.

La chaleur de combustion des fèces correspond à l'énergie perdue par suite d'une digestion incomplète. C'est ainsi que nous allons être amenés à parler de la digestibilité des glucides, car en conclusion de ce que nous venons d'exposer, l'énergie métabolisable des glucides peut se traduire par :

$$\frac{\text{Chaleur de Combustion} \times \text{Coefficient d'utilisation digestive}}{100}$$

Nous n'entrerons pas dans les détails de mesure d'énergie utilisable car cela nous entraînerait trop loin.

**III. — RAPPELS SUR LA DIGESTIBILITÉ
DES GLUCIDES**

La notion de digestibilité des aliments intervient : en effet, certaines substances douées d'un potentiel nutritif ne sont pas alimentaires faute d'être digérées.

L'arsenal diastasique de l'homme et des mammifères en général n'est pas illimité. Contrairement aux sucs digestifs de certains invertébrés (escargot par exemple), ceux de l'être supérieur ne renferment aucun enzyme capable de transformer la cellulose en glucose assimilable. Cependant, chez les herbivores, un mécanisme de compensation intervient : les microorganismes hôtes du tube digestif sont capables d'opérer cette transformation et d'en faire bénéficier l'animal supérieur. La notion classique de « glucides assimilables » et d'« indigestible glucidique » varie donc avec les catégories animales envisagées. Chez les animaux omnivores monogastriques, la disposition anatomique du tube digestif et la rapidité relative du transit laisse une marge d'action faible aux microorganismes dont l'animal est porteur. Chez les herbivores, au contraire, et en particulier chez les polygastriques, l'énorme volume des réservoirs digestifs et la stagnation des aliments dans certains segments du tube digestif permettent une action très développée de la microflore (en particulier, celle du rumen qui, chez les polygastriques réalise la digestion de presque tous les composés cellulotiques). L'indigestible glucidique ne sera pas le même dans les deux cas.

1. — Omnivores monogastriques.**a) Glucides assimilables.**

Ils comprennent non seulement les sucres, mais également les glucides facilement hydrolysables du type amidon, glycogène, inuline.

Par extension, ce terme englobe également les acides organiques

(lactique, citrique, malique, etc.) Tous ces corps sont intégralement digérés et leur concentration dans le contenu de l'intestin terminal ne dépasse pas 50 mg par g de matière sèche. C'est donc que leur utilisation avoisine 100 p. 100. Seule, leur vitesse d'absorption varie, plus grande pour les sucres physiologiques (glucose, galactose) que pour les autres (pentoses). Cependant, il faut noter une attaque microbienne non négligeable des sucres ; en particulier, la transformation des sucres en acide lactique est importante chez le nourrisson et chez l'animal de lait. Chez les adultes, il y a également transformation bactérienne au niveau de l'intestin, avec formation d'acides organiques, alcool et gaz. Il se pourrait cependant qu'un excès d'indigestible diminue légèrement l'utilisation des glucides assimilables.

b) Indigestible glucidique.

Sous cette appellation, JACQUOT et GUILLEMET (33) réunissent les polysaccharides complexes qui constituent les tissus de soutien des végétaux et qui renferment notamment la cellulose et la lignine.

Faute de cellulase, ce ballast est théoriquement indigestible. Cependant, une attaque est effectuée par la microflore intestinale ; mais cette dégradation est minime. Le siège de la « fermentation » de la cellulose, chez les monogastriques omnivores, se trouve au niveau du cœcum et du côlon. Il se produit alors des gaz et des acides gras inférieurs (ac. acétique, propionique, butyrique). L'intensité de cette attaque demeure très faible, c'est ainsi que le Porc ne détruit au cours du transit digestible que 2 p. 100 de cellulose pure et 3,5 p. 100 de cellulose complexe des balles d'avoine. Les carnivores rejettent le ballast en totalité. Chez tous les monogastriques omnivores (homme, porc, volaille) le ballast cellulosique mérite donc bien le nom d'indigestible glucidique. Il peut être partiellement dégradé, mais disparition ne signifie pas forcément utilisation. Il est donc vraisemblable que l'utilisation digestive de la cellulose est faible, sinon nulle.

2. — Herbivores monogastriques et polygastriques.

Chez ces animaux, l'attaque microbienne est considérable. Cependant, son siège n'est pas le même selon qu'il s'agit de monogastriques (équins par ex.) ou de polygastriques (bovins par ex.). Chez les premiers, l'attaque se situe surtout au niveau des vastes réservoirs terminaux : cœcum et côlon. Chez les seconds, où elle a été particulièrement étudiée, elle se produit surtout au niveau des réservoirs gastriques (rumen) et à un moindre degré au niveau du cœcum.

De ce fait, chez les polygastriques, l'attaque bactérienne l'emporte nécessairement sur l'attaque enzymatique parce qu'elle intervient en

premier. Chez les herbivores monogastriques, elle s'effectue également, mais après l'attaque enzymatique.

a) Les *glucides facilement hydrolysables* sont utilisés par les herbivores dans les mêmes proportions que par les omnivores. Mais, il peut y avoir compétition entre l'attaque de ces glucides et la cellulolyse de telle sorte que parfois l'assimilation des glucides hydrolysables demeure incomplète. En outre, chez les ruminants, il ne s'agit pas d'une hydrolyse, mais d'une fermentation bactérienne qui s'effectue au niveau du rumen. Cette fermentation en acides gras inférieurs (propionique, acétique, butyrique) s'accompagne d'une perte d'énergie sous forme de gaz (CO_2 et CH_4). Ces acides organiques peuvent, soit servir directement de métabolites énergétiques à l'animal, soit servir d'aliment à la microflore qui synthétise des polysaccharides qui, eux, seront passibles de l'action des sucs digestifs et transformés en nutriments glucidiques absorbables. Ces mécanismes, qui expriment bien la symbiose entre la microflore et l'hôte rendent encore impossible l'évaluation énergétique directe des glucides chez le ruminant. On ne saurait, en effet, les doter indifféremment du coefficient 4 Calories par g sec.

b) La symbiose se manifeste mieux encore si l'on considère l'*indigestible glucidique* dont certains constituants sont parfaitement utilisés à des fins énergétiques, toujours par le même processus d'attaque fermentaire. On peut donc dire que chez les herbivores, tous les glucides des sucres simples aux polysaccharides les plus complexes subissent des fermentations les transformant partiellement ou totalement en composés labiles et absorbables.

En résumé et de façon schématique, chez les omnivores monogastriques et les carnivores, la fraction des glucides utilisables est formée d'oses et de polyholosides facilement hydrolysables, la fraction inutilisable étant formée surtout de parois cellulaires végétales. Par contre, celles-ci sont utilisables chez la majorité des herbivores monogastriques et polygastriques, mais dans des proportions plus ou moins fortes selon le composant envisagé.

Il s'agit donc, à partir de ces données d'analyser différentes méthodes de dosage des glucides utilisées actuellement et d'essayer de déterminer quelles sont celles à rejeter et celles à garder.

IV. — MÉTHODES DE DOSAGE

L'analyse chimique des aliments n'est généralement pas une fin en soi, c'est un moyen d'évaluer rapidement la « valeur alimentaire » des produits analysés. Nous sommes donc amenés à un double choix :

Sur quoi portera cette analyse ?

Quelle méthode devra-t-on employer ?

Le choix des constituants à doser doit tenir compte, non seulement de leur valeur alimentaire propre, mais également de leur rôle dans l'utilisation de la ration. L'intérêt du dosage des éléments celluloseux repose pour une bonne part sur la corrélation inverse qui existe entre la digestibilité des matières organiques totales et l'encombrement de la ration en ballast. On choisira donc d'une part, les constituants à haute efficacité, d'autre part ceux qui présentent le caractère d'anti-aliment.

Reste l'adoption des méthodes.

Les méthodes modernes d'analyse et notamment les techniques de chromatographie d'absorption ou de partage, ont permis de préciser la composition de certains tissus animaux ou végétaux. Toutefois, ces méthodes sont trop longues ou trop délicates pour être appliquées dans les analyses de routine. Pour cette raison, les méthodes courantes d'analyse des aliments se bornent généralement à séparer, au moyen de techniques plus ou moins valables, un ensemble de substances présentant en commun des caractères de solubilité ou d'insolubilité dans divers réactifs. En ce qui concerne l'analyse des glucides, la « cellulose brute » est ainsi définie. Il en résulte que l'analyse perd en spécificité ce qu'elle gagne en simplicité et rapidité d'exécution.

Nous n'exposerons ici que les méthodes facilement utilisables pour les analyses de routine. Cependant, il nous paraît nécessaire de noter au passage quelques méthodes s'appliquant au dosage de certains composants dans les cas d'analyse fine.

Nous pouvons grossièrement diviser ces méthodes en :

- méthodes strictement chimiques avec éventuellement des applications nutritionnelles ;
- méthodes conventionnelles à fins nutritionnelles.

A. — Méthodes strictement chimiques.

I. — Glucides physiologiquement utilisables.

En alimentation humaine, MC CANCE et WIDDOWSON (40) proposent de doser individuellement quelques constituants glucidiques : sucres, amidon, dextrines. Pour adapter cette méthode à des fins nutritionnelles, ils tiennent compte de la digestibilité réelle en comparant les teneurs de l'aliment aux teneurs des fèces, ce qui permet de définir les glucides utilisables.

Sur le plan théorique, on peut reprocher à cette technique de ne pas rendre compte de l'ensemble des glucides et de négliger des corps voisins comme les acides organiques. Sur le plan pratique, c'est une méthode très laborieuse qui ne saurait convenir pour un travail de routine.

D'ailleurs ses auteurs ne l'ont mise en œuvre que dans le cas du taux d'extraction des farines panifiables. Elle constitue sur ce point la technique de référence qui permet d'éprouver la validité du système 4-9-4 d'AT-WATER.

Les méthodes conventionnelles utilisées pour doser les glucides physiologiquement utilisables sont les suivantes :

— *glucides réducteurs et glucides réducteurs après hydrolyse.*

Après extraction à l'eau ou à l'alcool et défécation (ferrocyanure de potassium et acétate de zinc), on dose d'abord les sucres directement réducteurs avant inversion au moyen de la méthode de G. BERTRAND (5) par exemple (1). Les glucides réducteurs après inversion sont hydrolysés au moyen d'acide chlorhydrique à 1,2 p. 100 pendant 20 mn à 70°-75°. La suite des opérations est la même que précédemment.

— *amidon.*

Deux types de méthodes sont préconisés avec des variations selon les laboratoires et les pays.

Dans la première, on procède à une hydrolyse acide. La modalité française est le dosage des « glucides hydrolysables à l'ébullition » qui donne un résultat soit sous forme de réducteur total, soit sous forme « amidon ». En voici le mode opératoire : on hydrolyse l'aliment, de préférence après lavage par l'eau ou par l'alcool, et on dose les sucres réducteurs obtenus par la méthode de BERTRAND (par exemple). L'hydrolyse se fait par SO_4H_2 à 2 p. 100 pendant 4 h à l'ébullition ; elle est suivie d'une défécation.

Dans la deuxième, on effectue une hydrolyse enzymatique par l'amylase, l'extrait de malt, ou encore la pancréatine. Après une hydrolyse acide finale, les sucres réducteurs sont dosés (BERTRAND) et exprimés en glucose. Le taux d'« amidon » est obtenu en multipliant le résultat précédent par 0,9.

Ces méthodes conduisent aux commentaires suivants.

L'expression « en amidon » est conventionnelle. Celle de « glucides facilement hydrolysables à l'ébullition » vaudrait mieux, mais elle n'est pas parfaite puisque l'extraction préalable par l'eau et l'alcool soustrait certains sucres qui, comme le saccharose, rentreraient dans les « glucides facilement hydrolysables ». On peut surtout reprocher au « réducteur total » représentatif de ces glucides, de ne pas avoir une signification nutritionnelle très précise. Il comprend effectivement les polysaccharides assimilables, comme l'amidon ou l'inuline. Mais, il renferme aussi d'autres substances réductrices libérées par l'hydrolyse qui ont une efficacité nutritionnelle beaucoup plus douteuse. C'est le cas notamment pour les

(1) La méthode de G. BERTRAND est trop classique pour que nous la décrivions.

Quand il s'agit de doser des quantités faibles de sucres réducteurs, d'autres méthodes plus sensibles doivent être employées : par exemple, la méthode de Hagedorn et Jensen (17).

pentoses provenant des pentosanes, les acides uroniques provenant des hémicelluloses et des composés pectiques. En exprimant le « réducteur total » en glucose, on fait donc une double erreur : une erreur chimique, car l'équivalence de l'oxydure de cuivre en permanganate change selon les sucres, une erreur nutritionnelle car on englobe sous le nom de glucides assimilables des substances d'intérêt alimentaire très différent. La méthode des glucides facilement hydrolysables à l'ébullition n'a donc de signification que si l'on dose au moins les pentosanes, sans aller au détail de chaque composant.

2. — Dosage des Pentosanes.

Les méthodes généralement utilisées diffèrent très peu de la méthode de TOLLENS et KRUGER ⁽¹⁾. Les pentosanes sont dosés globalement en traitant la substance à l'ébullition par l'acide chlorhydrique ($d = 12$ p. 100) ; il se forme du furfural recueilli par distillation. On le précipite par un réactif approprié qui est généralement la phloroglucine. Le phloroglucide obtenu est recueilli, lavé, séché, pesé. Des tables (KROBER) donnent la correspondance entre le poids de phloroglucide et les pentoses et pentosanes. Le résultat est exprimé en xylanes ou en pentosanes totaux.

3. — Dosage de la cellulose vraie.

Parmi les méthodes préconisées par CHARLET LÉRY, FRANÇOIS et LEROY (8) pour doser la cellulose vraie, la technique de KURSHNER (21) semble être une des plus utilisables ; quoique non classique, elle est non seulement précise, mais relativement rapide.

En voici les modalités :

La matière première séchée à l'étuve à 105° est dégraissée à l'ébullition successivement par l'alcool éthylique et l'éther sulfurique. Elle subit ensuite une attaque par la soude à l'ébullition, puis par un mélange d'alcool et d'acide nitrique concentré. L'insoluble obtenu est lavé à plusieurs reprises par de l'eau distillée bouillante.

D'autres méthodes sont également satisfaisantes — celle de BERTRAND (6), et surtout celle de NORMAN et JENKINS (28) : cette dernière est recommandée par JARRIGE. En voici les modalités qui reposent sur l'utilisation de l'hypochlorite de soude. Le produit obtenu représente aussi bien que possible le tissu cellulosique du végétal débarrassé des substances incrustantes. L'unique prétraitement est une ébullition avec une solution de sulfate de soude. Deux traitements sont alors effectués avec de l'hypochlorite « neutre » (solution commerciale), puis trois au moins avec de l'hypochlorite acidulé, chaque traitement étant suivi d'une ébullition avec du sulfite.

(1) Modifications intéressantes par JAYME G. et SARTEN P. (20).

4. — Dosage des autres constituants glucidiques ou substances rattachées.

a) Dosage de la lignine.

Il faudrait parler non de la lignine, mais des lignines, variables avec l'espèce végétale, le stade de développement de la plante, etc. Toutefois on définit comme lignine le constituant du ballast insoluble à froid dans l'acide sulfurique. La plupart des méthodes de dosage sont basées sur cette propriété. Dans les substances alimentaires, la présence de protéines et de polysaccharides peut provoquer la formation de produits de condensation. Pour éviter cet inconvénient, les méthodes actuelles prévoient une hydrolyse enzymatique (à la pepsine) ou bien une hydrolyse au moyen d'un acide dilué.

Voici les caractéristiques du dosage décrit par MAHOOD et CABLE (25) et préconisé par FRANÇOIS : la matière première séchée et dégraissée est mise en contact avec l'acide concentré (SO_4H_2), pendant une vingtaine d'heures à la glacière. Par dilution dans l'eau, le taux de l'acide est ramené à 3 p. 100. La solution ainsi obtenue est traitée à l'ébullition pendant deux heures. Au cours de ce traitement, un certain nombre de groupements $-\text{O}-\text{CH}_3$ de la lignine disparaissent, ce qui fait que le résultat du dosage est légèrement inférieur à la masse de lignine initiale. D'après FRANÇOIS, cette perte ne dépasserait pas 7 p. 100 pour la lignine de foin de luzerne et 4 p. 100 pour la lignine provenant des matières fécales de ruminants alimentés au même foin.

JARRIGE, de son côté, préconise la méthode de ELLIS, MATRONE et MAYNARD (11) qui indiquent les opérations suivantes :

1° Extraction à l'alcool et benzène pour éliminer les graisses, cires, cutines, etc.

2° Digestion par la pepsine en milieu chlorhydrique pour éviter la correction due aux protéines sur le résidu.

3° Reflux avec SO_4H_2 à 5 p. 100 pendant 1 heure pour réduire les interférences par les protéines et les pentoses.

4° Digestion avec SO_4H_2 à 72 p. 100 pendant 2 heures à 20°C pour hydrolyser la cellulose et isoler la lignine.

5° Dilution à 3 p. 100 de l'acide sulfurique et reflux de 2 heures pour compléter l'hydrolyse et la dissolution de la cellulose.

6° Filtration et estimation de la lignine par « perte au feu » du résidu.

b) Dosage des composés pectiques.

FRANÇOIS (8) décrit ainsi la technique du dosage des composés pectiques. « Après extraction des lipides par l'alcool et l'éther bouillants, l'échantillon est traité par de l'eau à l'ébullition. Il subit ensuite l'action

d'une solution faible d'acide chlorhydrique, puis d'une solution diluée de carbonate de sodium, afin de séparer au mieux pectine, pectose et acide pectique. Le filtrat provenant des deux premiers traitements est concentré, puis additionné de cinq fois son volume d'alcool chlorhydrique afin de précipiter la pectine. Celle-ci est ensuite purifiée. L'extrait alcalin est traité de son côté par une solution de chlorure de calcium afin d'obtenir du pectate de calcium, lequel est transformé ultérieurement en acide pectique par l'acide chlorhydrique ». Ces dosages sont évidemment très longs et très minutieux, et se prêtent fort mal à des analyses en série.

Nous pouvons faire à l'ensemble de ces méthodes la même critique : elles sont trop longues et minutieuses pour être utilisées dans l'analyse courante des aliments. Elles peuvent néanmoins être poursuivies au laboratoire, lorsqu'il s'agit d'analyser les divers facteurs de digestibilité.

B. — Méthodes conventionnelles à application nutritionnelle.

I. — Méthode par différence.

La méthode la plus ancienne calcule la quantité de glucides par la différence entre la quantité totale de matière organique sèche d'une part et la somme des protides et des lipides d'autre part.

C'est une méthode très critiquable car elle supporte toutes les erreurs du dosage des protides et des lipides : ces erreurs sont inhérentes aux choix du coefficient de conversion pour les premiers, aux fautes de technique opératoire pour les seconds. De plus, elle n'établit aucune distinction entre glucides assimilables et indigestible glucidique.

2. — Extractif non azoté et « cellulose brute ».

Les travailleurs de la Station Zootechnique de WEENDE ont cru perfectionner la méthode par différence en la compliquant d'un dosage de « cellulose brute ». Ils définissaient déjà l'extractif non azoté comme représentatif des glucides assimilables. L'extractif non azoté est évalué par la différence entre le poids total de substance organique sèche d'une part, et la somme protides + lipides + cellulose brute d'autre part. La méthode de référence pour le dosage de la cellulose brute est la méthode de WEENDE (19). C'est l'un des dosages les plus conventionnels. On convient en effet de désigner sous le nom de « cellulose brute » le résidu qui subsiste après une hydrolyse acide (acide sulfurique à 1,15 p. 100 — 1/2 h à l'ébullition), puis une hydrolyse alcaline de l'aliment (solution de soude à 1,15 p. 100 — 1/2 h à l'ébullition). Après chaque hydrolyse, les substances non dissoutes sont séparées et lavées avec soin. Le résidu de la seconde hydrolyse après dessiccation, pesée et incinération pour permettre de déduire le poids des cendres, est la « cellulose brute ».

Critique.

La méthode de WEENDE présente des difficultés d'ordre pratique, des insuffisances d'ordre biochimique et des insuffisances d'ordre nutritionnel.

Difficultés opératoires : cette méthode qui semble élémentaire dans son exécution exige une standardisation absolue faute de laquelle les résultats sont incohérents. Ainsi, le seul fait de séparer les résidus par filtration ou par centrifugation donne des valeurs qui vont du simple au triple (et même parfois beaucoup plus) pour certains aliments. En France, la séparation par centrifugation est imposée dans la législation. Les conditions d'attaque acide et alcaline doivent être également suivies avec minutie (notamment en ce qui concerne la constance du volume).

Insuffisances d'ordre biochimique : elles sont nombreuses. Du point de vue qualitatif la « cellulose brute » ne correspond à rien de bien défini. La double hydrolyse solubilise non seulement la totalité des glucides cytoplasmiques, mais également une fraction importante des constituants membranaires.

Le tableau de NORMAN (1935) le montre bien (27).

TABLEAU II

*Influence des hydrolyses de la méthode de WEENDE
sur les constituants du végétal
(d'après NORMAN 1935).*

Constituant	Action de l'acide 1,25 %	Action de l'alcali 1,25 %
Cellulose vraie	très légère	légère
Cellulosanes	légère hydrolyse	extraction partielle
Hémicelluloses polyuronides	hydrolyse intense et extraction	extraction complète
Lignine	très légère $\neq 0$	extraction intense (assez variable)
Amidon	hydrolyse et extraction	extraction complète
Protéines	extraction partielle	extraction presque complète

La cellulose brute contient donc la plus grande partie de la cellulose vraie, une partie des cellulosanes (pentosanes en particulier) et une fraction variable *mais faible* de la lignine. C'est somme toute, un résidu enrichi en cellulose.

La critique fondamentale est que la proportion de ces constituants varie d'un aliment à l'autre.

Les facteurs de variation, sur lesquels nous ne nous attarderons pas, sont en particulier la famille botanique et le stade de développement.

Bien mieux, il n'est pas rare de trouver de la « cellulose WEENDE » dans des produits comme la farine de viande ou de poisson.

Critiques d'ordre nutritionnel. — Comme le montre le tableau précédent, l'extractif non azoté ne représente absolument pas la teneur en

éléments solubles facilement assimilables, puisqu'il contient la moitié des substances membranaires : il contient en particulier la majorité de la lignine qui est pratiquement indigestible.

Contrairement au but de ses créateurs, la méthode de WEENDE ne sépare donc pas les substances glucidiques et apparentées en une fraction indigestible et une fraction digestible. En effet, la cellulose vraie, constituant principal de la cellulose brute est un des éléments les plus digestibles de la membrane cellulaire chez les polygastriques.

TABLEAU III

Digestibilité comparée de la cellulose brute et de l'extractif non azoté
(d'après CRAMPTON et MAYNARD).

Catégorie d'aliment	Nb.	Coef. moyen de digestibilité		% des cas dans lesquels la dig. de la c. b. est supérieure à celle de l'e. n. a.
		c. b. Cellulose brute	e. n. a. Extractif non azoté	
Fourrages secs	110	52,4	59,5	39
Fourrages verts	61	63,5	76,3	20
Ensilages	25	58,2	64,6	28
Concentrés	88	53,3	78,5	10

La lignine par contre, qui est la fraction la moins digestible des végétaux passe en majeure partie dans l'extractif non azoté. En conséquence, l'extractif non azoté est parfois moins digestible (chez les polygastriques) que la cellulose brute. C'est ce qui ressort du tableau suivant emprunté à CRAMPTON et MAYNARD (1938) (9).

3. — Insoluble formique.

Pour GUILLEMET et JACQUOT (16), le dosage du réducteur total, exprimé en glucose total après hydrolyse ménagée, permettrait l'estimation des glucides assimilables dans leur totalité. L'emploi d'acide formique est préconisé pour le dosage de l'indigestible glucidique total. Cet acide dissout en effet les protides et les amidons et laisse un résidu, l'insoluble formique, qui correspond aux tissus de soutien des végétaux et représente, en première approximation, l'ensemble des glucides indigestibles pour les monogastriques.

Voici les conditions du dosage :

On part de 2 g d'aliment que l'on soumet d'abord à une hydrolyse à l'ébullition, pendant 1/2 h, sous l'action d'une solution d'acide sulfurique 2N. La fraction non dissoute est recueillie et lavée par centrifugation. Elle est ensuite traitée au bain-marie bouillant, par 60 cc d'acide formique à 80 p. 100.

Le résidu, après lavage pour le débarrasser du réactif est entraîné dans une capsule de silice, séché, puis pesé. Après déduction du poids des cendres résultant de la calcination, on obtient l'insoluble formique que l'on exprime en grammes par kg de matière sèche du produit initial.

Cette méthode présente des avantages tant au point de vue chimique qu'au point de vue nutritionnel.

En sa faveur, on doit rapporter les arguments expérimentaux de GUILLEMET et JACQUOT.

Les premiers sont d'ordre analytique. Sur 26 aliments du bétail, le total des substances dosées, c'est-à-dire la somme cendres et protides + lipides + réducteur total + insoluble formique représentait 97 % du poids sec de l'échantillon mis en œuvre. Sur 10 autres, la somme avoisinait 95 p. 100 ; sur quatre, seulement 93 p. 100. L'indéterminé est donc faible contrairement à ce qui se passe avec la « cellulose WEENDE ».

Récemment, CHARLET LERY, FRANÇOIS et LEROY ont montré que l'insoluble formique correspondait presque exactement à la somme « cellulose vraie + lignine ». C'est ce qui ressort du tableau suivant.

TABLEAU IV

Dosages comparés de l'insoluble formique, de la cellulose WEENDE, de la cellulose vraie et de la lignine dosée.

Désignation de l'aliment	Insoluble formique I. F.	Cellulose Weende C. W.	Cellulose vraie C.	Lignine dosée L.	Somme Cell. vraie + Lignine dosée C. + L.	Rapport Cell. + Lignine / Ins. formique
Herbe de prairie..	309	249	246	76	322	1,04
Foin de luzerne...	370	352	266	136	402	1,09
Paille.....	531	438	384	124	508	0,96
Betterave.....	112	112	72	28	100	0,89
Pulpe de betterave	258	223	199	43	242	0,94
Son de blé.....	166	133	87	71	158	0,95
Avoine.....	147	89	100	56	156	1,06
Tourteau de colza.	204	134	69	111	170	0,83
Foin, son et pulpe.	297	267	194	109	303	1,02

$$\text{Moyenne du rapport } \frac{C. + L.}{I. F.} = 0,98 \pm 0,14$$

Ainsi à l'opposé de la cellulose brute qui correspond à un mélange variable de substances mal identifiées, l'insoluble formique se rapporte à des corps parfaitement définis.

Sur le plan nutritionnel GUILLEMET et JACQUOT ont comparé l'insoluble formique des ingesta et des excréta chez les monogastriques. Ils ont trouvé une très bonne concordance.

Les résultats de GUILLEMET et HAMEL (33) à ce sujet sont particulièrement démonstratifs.

TABLEAU V

Régime à base de	Insoluble formique ingéré (g)	Insoluble formique excrété (g)	Différence en % de l'ingéré
Farine blanche	3,90	3,72	— 4,6
Farine bise	37,2	35	— 5,7
Son	80	69,45	— 13,4
Palmiste	40,35	37,60	— 6,8

Sauf pour le son, on retrouve à 5 p. 100 près dans les fèces l'insoluble formique des aliments. GUILLEMET, JACQUOT, TREMOLIÈRES et ERFMANN (35) ont fait la même constatation chez l'homme.

Il semble donc bien démontré que l'insoluble formique est indigestible chez les Monogastriques.

La comparaison entre la composition de l'insoluble formique de l'aliment et des fèces permet en outre d'assurer qu'il s'agit bien de la même substance.

TABLEAU VI

Insoluble formique du karité		Insoluble formique des fèces de rats nourris au karité	
C	48,97 %	C	48,77
H	5,87 %	H	5,60

Pour être strictement objectif, on peut faire quelques critiques à la méthode de JACQUOT et GUILLEMET. D'une part, elle ne s'applique pas aux fourrages, mais seulement aux « concentrés » : céréales, tourteaux, etc. Elle ne peut donc servir qu'aux aliments de l'homme, du porc et de la volaille. Les auteurs préconisent une hydrolyse faible pour doser les glucides assimilables ; nous avons déjà dit qu'une telle estimation conduisait à des erreurs par excès et qu'il fallait déduire du « réducteur total » le réducteur correspondant aux glucides en C5. Enfin, HEDIN et PHILLIPART (18), contrairement à CHARLET-LÉRY et col., considèrent que l'insoluble formique ne renferme pas la totalité de la lignine bien qu'en contenant beaucoup plus que la cellulose WEENDE.

Si l'on établit le bilan des avantages et des inconvénients, on voit cependant que l'insoluble formique a beaucoup plus de validité chimique et de signification nutritionnelle que la cellulose brute.

4. — Méthode d'ATWATER (30).

Une méthode combinant la détermination des glucides « par différence » avec l'étude de leur digestibilité et avec des mesures calorimétriques constitue la base du système qu'ATWATER a utilisé pour établir la valeur énergétique utile des glucides. Ainsi obtenue, celle-ci exprime la

fraction digérée des principes nutritifs dans le mélange dénommé « glucides par différence ». La plupart des données précises en alimentation humaine que l'on possède actuellement reposent sur ce procédé des coefficients spécifiques d'ATWATER.

L'emploi des coefficients spécifiques montre que le système 4-9-4 appliqué à des aliments riches en indigestible glucidique conduit à surestimer leur valeur énergétique.

V. — CHOIX D'UNE MÉTHODE. APPLICATION AU CALCUL DE LA VALEUR ÉNERGÉTIQUE RÉELLE DES ALIMENTS

Nous avons donc à notre disposition un grand nombre de méthodes d'analyse des glucides alimentaires. Il est évident que dans l'analyse de routine, beaucoup de ces méthodes sont inapplicables parce que trop longues et trop minutieuses. Il s'agit donc sur le plan pratique, de choisir une méthode ou un complexe de méthodes permettant de serrer au plus près la valeur énergétique réelle des aliments. Ce choix est délicat et la solution idéale demeure à trouver, mais elle sera différente dans le cas des monogastriques et dans celui des polygastriques.

1. — Monogastriques omnivores.

Les conclusions suivantes découlent des données du chapitre précédent. Elles ne sont valables que dans l'état actuel des choses.

a) Si l'on dispose des coefficients d'utilisation digestive permettant d'appliquer les coefficients spécifiques de ATWATER, le calcul des glucides par différence peut et doit être utilisé. Malheureusement les coefficients spécifiques n'ont été déterminés que pour quelques aliments de l'homme.

b) Par contre, ce calcul ne saurait convenir pour l'emploi du coefficient arrondi 4 cal/g faisant partie par différence du système 4-9-4 car on risquerait des erreurs considérables. Dans ce cas, la méthode à l'insoluble formique combinée au dosage du réducteur total semble la meilleure approximation dont nous disposons.

Prenons par exemple le cas du blé.

La méthode de GUILLEMET et JACQUOT donne un résultat strictement identique au chiffre de référence, obtenu par ATWATER en utilisant ses coefficients spécifiques (337 cal). Le dosage des glucides par différence et en attribuant le coefficient 4 au chiffre obtenu conduit à une surestimation de la valeur énergétique réelle. Le calcul fondé sur la cellulose brute et l'extractif non azoté fournit également une valeur excessive. Nous estimons donc, que lorsqu'on ne dispose pas de coefficients spécifiques tenant compte de la digestibilité, on ne saurait évaluer les glucides par différence. A défaut de la méthode de MC CANCE qui détermine isolément les

TABLEAU VII
Valeur énergétique réelle de 100 grammes de blé entier.

Méthode par différence	Méthode de WEENDE	Méthode par l'insoluble formique
Eau 12	Eau 12	Eau 12
Protides . $12,2 \times 4 = 48,8$ Cal.	Protides . $12,2 \times 4 = 48,8$ Cal.	Protides . $12,2 \times 4 = 48,8$ Cal.
Lipides . $2,3 \times 9 = 18,4$ Cal.	Lipides . $2,3 \times 9 = 18,4$ Cal.	Lipides . $2,3 \times 9 = 18,4$ Cal.
Glucides . $73,9 \times 4 = 295,6$ Cal.	Cellulose brute	Indigestible 2,9
Cendres . . 1,7	Extractif non azoté $69,7 \times 4 = 278,8$ Cal.	Glucides Assimil . $67 \times 4 = 269,6$ Cal.
	Cendres . . 1,7	Cendres . . 1,7
Total . . . 100	Total . . . 100	Total . . . 98,5
		362,8 Cal. 346,0 Cal. 336,8 Cal.

membres du complexe « glucides assimilables » on pourra évaluer d'une part les glucides hydrolysables exprimés en glucose, d'autre part l'insoluble formique. Seuls, les premiers interviendront dans le calcul de la valeur énergétique avec le coefficient 4.

L'exemple précité du blé est déjà démonstratif. En choisissant certains aliments lignifiés utilisables en alimentation animale, on arrive à des erreurs considérables si on utilise le dosage de la cellulose WEENDE et le calcul de l'extractif non azoté. En effet, on assimile la cellulose brute à l'indigestible glucidique qui n'apparaît pas au bilan énergétique (alors qu'elle ne renferme qu'une partie de cet indigestible) et l'on affecte à l'extractif non azoté le coefficient calorique de 4 (alors qu'il renferme des principes indigestibles). Voici un exemple.

TABLEAU VIII
Valeur énergétique réelle de 100 g de tourteau (karité).

Méthode classique	Méthode proposée
Eau 12,5	Eau 12,5
Cendres 6,7	Cendres 6,7
Protides $15 \times 4 = 60$ Cal.	Protides $15 \times 4 = 60$ Cal.
Lipides $3,5 \times 9 = 31,5$ Cal.	Lipides $3,5 \times 9 = 31,5$ Cal.
Cellulose brute 10,5	Réducteur total $12,8 \times 4 = 51,2$ Cal.
Extractif non azoté $51,8 \times 4 = 207,2$ Cal.	Indice formique 40,7
Total 100	
	298,7 Cal. 91,2 142,7 Cal.

Cet exemple représente évidemment la limite extrême de ce qu'on peut trouver dans les aliments, car il est rare qu'ils soient aussi chargés en ballast cellulosique.

2. — Herbivores polygastriques et monogastriques.

En ce qui concerne ces animaux, le problème est beaucoup plus complexe. En effet, par rapport aux monogastriques, il se complique du fait qu'il est très difficile de calculer avec une certitude satisfaisante la valeur énergétique nette des différents aliments à partir de leurs éléments diges-

tibles (même avec les améliorations récentes telles que celles proposées par LEROY (39) en 1955). En effet, si le coefficient de digestibilité estime correctement la quantité de glucose absorbée par le monogastrique, il n'indique chez le ruminant que la quantité de glucides disparus, mais non la nature et les proportions des produits terminaux qui passent dans le sang : glucose et acide propionique (glycoformateur), acide acétique et acide butyrique à action dynamique spécifique très élevée. Or ces proportions sont très variables avec le type de fourrages (FRANÇOIS, LEROY et ZELTER) (32).

Nous voyons donc que même si l'on connaissait très exactement l'énergie métabolisable des glucides de la ration, il serait très difficile de discriminer ensuite l'énergie nette.

Or, les méthodes actuelles de dosage permettant le calcul de l'énergie métabolisable présentent elles-mêmes des failles assez considérables. En effet, les critères d'une bonne méthode de dosage des glucides doivent être les suivants :

a) un critère biochimique : séparer des constituants ou des groupes de constituants bien définis (par leurs caractéristiques chimiques ou leur localisation) et les doser en totalité.

b) un critère nutritionnel : séparer des constituants ou des groupes de constituants dont la valeur énergétique pour l'animal est différente.

Nous avons vu plus haut que la méthode de WEENDE ne satisfait à aucune de ces deux conditions.

La méthode à l'insoluble formique ne saurait être utilisée ici, sauf toutefois si on la combine avec d'autres méthodes. Deux groupes de méthodes sont actuellement à l'étude.

L'un de ces groupes a été proposé par CHARLET LERY, FRANÇOIS et LEROY. Ces auteurs proposent de doser la cellulose vraie, la lignine, les glucides hydrolysables à l'ébullition, les pentosanes, l'insoluble formique et les composés pectiques. Cette nouvelle méthode d'analyse présente l'avantage de séparer les matières analysées en groupes mieux définis chimiquement que ceux de la méthode classique. Les proportions relatives des différents glucides, des matières pectiques et de la lignine permettent d'apprécier avec une assez bonne approximation la digestibilité de l'aliment, ce qui présente un progrès indéniable par rapport à l'ancien procédé basé essentiellement sur le dosage de la cellulose WEENDE. Cependant ces méthodes sont longues et difficiles.

Une autre méthode étudiée par JARRIGE (12) qui la met actuellement au point à Jouy-en-Josas, est très séduisante : c'est une méthode de fractionnement successif applicable aux fourrages. Ses éléments caractéristiques sont les suivants :

— une extraction maximum des constituants cytoplasmiques par l'eau ou une solution saline.

— le dosage des glucides cytoplasmiques (sucres + fructosanes) sur cet extrait.

— le dosage de la lignine parce qu'elle est le critère le plus fidèle de la digestibilité comparée des différentes plantes aux différents stades de développement.

Les étapes successives de ce fractionnement sont donc :

— une extraction par l'eau ou une solution saline sur laquelle sont dosés les glucides solubles totaux ;

— elle est suivie d'une extraction complémentaire par les solvants organiques pour enlever le maximum de constituants cytoplasmiques insolubles. Éventuellement, pour les légumineuses, une extraction des substances pectiques par l'oxalate de NH_4 ;

— puis une hydrolyse des hémicelluloses par l'acide sulfurique (concentration et conditions d'attaque à déterminer) ;

— une hydrolyse de la cellulose par l'acide sulfurique 72 p. 100 avec dosage de la lignine résiduelle.

Il restera lorsque cette méthode qui nous semble très judicieuse sera codifiée et utilisée dans la pratique, à transcrire ces données en valeur énergétique, c'est-à-dire à déterminer le coefficient calorique de chacun des groupes glucidiques identifiés.

CONCLUSIONS

En fait, nous pourrions conclure en ce qui concerne le choix des méthodes de dosage des glucides alimentaires destinés aux polygastriques en disant qu'il n'y a pas *une* méthode standard valable pour tous les aliments glucidiques, mais qu'il faut envisager dans l'état actuel des choses, d'utiliser une ou plusieurs méthodes d'analyse spécifique rendant compte de la composition de l'aliment et de ses particularités de dégradation.

En ce qui concerne les monogastriques, il semble que l'usage de la méthode « réducteur total » + « insoluble formique » soit le plus indiqué.

Cet exposé n'a pas eu l'ambition de décrire toutes les méthodes de dosage des aliments glucidiques : à ce point de vue, il est incomplet. Mais il espère donner néanmoins une idée de la complexité du problème posé, tout au moins en ce qui concerne les animaux polygastriques.

REMERCIEMENTS

A Monsieur R. JARRIGE, Chargé de Recherches au C. N. R. Z. de Jouy-en-Josas, pour une communication personnelle importante.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

a) Chimie des Glucides.

- (1) POLONOWSKI (M.). — Éléments de biochimie médicale, 1 vol., Paris, 1942, Masson et C^{ie}, éditeur.
- (2) POLONOWSKI (M.), LESPAGNOL (A.). — Chimie organique biologique, 1 vol., Paris, 1941, Masson et C^{ie}, éditeur.
- (3) WATTIEZ (N.), STERNON (F.). — Éléments de chimie végétale, 1 vol., Paris, 1935, Masson et C^{ie}, éditeur.

b) Techniques analytiques.

- (4) A. O. A. C. — Methods of analysis, 1 vol., Washington, 1950, A. O. A. C., éditeur.
- (5) BERTRAND (G.). — Le dosage des sucres réducteurs, *Bull. Soc. Chim.*, 1906, **35**, 1285.
- (6) BERTRAND (G.). — Composition et méthodes d'analyse des tissus végétaux lignifiés, *Ann. des fermentations*, 1935, **1**, 577, 595.
- (7) BRUCE (E.), WILLCOX (J. S.). — The determination of cellulose in nutritional studies. *Part I*. A new method for the determination of cellulose, *J. Agric. Sci.*, 1949, **39**, 145. — *Part II*. A comparison of the applicability of three methods for the determination of cellulose, *J. Agric. Sci.*, 1949, **39**, 153.
- (8) CHARLET LÉRY (G.), FRANÇOIS (A.), LÉROY (A. M.). — L'analyse des aliments destinés aux animaux et l'interprétation des résultats qu'elle fournit. *Ann. de Zootechnie*, 1952, **3**, 45.
- (9) CRAMPTON (E. W.), MAYNARD (L. A.). — Relation of cellulose and lignin content to the nutritive value of animal feeds. *J. Nutrition*, 1938, **15**, 383.
- (10) DOREE (Ch.). — Méthodes de la chimie de la cellulose, 1 vol., Paris, 1949, Dunod, éditeur.
- (11) ELLIS (G. H.), MATRONE (G.), MAYNARD (L. A.). — A 72 percent SO_4H_2 method for the determination of lignin, and its use in animal nutrition studies, *J. Animal Sci.*, 1946, **5**, 285.
- (12) FAUCONNEAU (G.), JARRIGE (R.). — Quelques problèmes physiologiques de l'utilisation des fourrages. Journées de la Fédération Européenne de Zootechnie, Reading, juillet 1955.
- (13) FOURNIER (P.). — Les méthodes de dosage des constituants des membranes végétales, *Bull. Soc. Sci. Hygiène alimentaire*, 1948, **4**, **5**, **6**, 122.
- (14) FRANÇOIS (A. C.). — Rapport préliminaire sur la standardisation des méthodes d'analyse des aliments destinés aux animaux. Troisième réunion sur les problèmes d'alimentation animale en Europe (Réunion mixte FAO, FEZ), Göttingen, Allemagne, 26-30 septembre 1955.
- (15) FRANÇOIS (A. C.). — Erreur commise dans le calcul de la valeur fourragère d'un aliment composé en fonction des erreurs de l'analyse chimique, *Ann. Agronomiques*, 1949, **2**, 139.
- (16) GUILLEMET (R.), JACQUOT (R.). — Essai de détermination de l'indigestible glucidique, *C. R. Ac. Sci.*, 1943, **216**, 508.
- (17) HAGEDORN (H. C.), JENSEN (B. N.). — Zur Mikrobestimmung des Blutzuckers mittels Ferricyanid, *Bioch. Zeit.*, 1932, **135**, 46 ; 1923, **137**, 92.
- (18) HEDIN (L.), PHILIPPART (M.). — Introduction à l'étude des assolements fourragers, *Ann. de l'Amélioration des Plantes*, 1953, **1**, 1.
- (19) HENNEBERG (W.), STOHMANN (F.). — Beiträge zur Begründung einer rationellen Fütterung der Wiederkäuer, 2 vol., Brunswick, 1860-1865, Schwetske, U. Sohn, éditeur.

- (20) JAYME (G.), SARTEN (P.). — Détermination des pentoses par l'acide bromhydrique, *Naturwissenschaften*, 1940, **28**, 822.
- (21) KURSHNER (K.), HOFFER (A.). — A new process for the determination of cellulose in wood and pulp, *Tech. chem. Paper Zellstoff Fab.*, 1929, **26**, 125, 139 ; 1934, **31**, 14.
- (22) LEVY HULOT. — Analyse immédiate des bois, 1 vol., Paris, 1946, Masson et C^{ie}, éditeur.
- (23) LÉGISLATION FRANÇAISE DES ALIMENTS DU BÉTAIL. — Textes codifiés et anotés, Paris, 1948, S. E. P., éditeur.
- (24) LOISELEUR (J.). — Techniques de laboratoire, 2 vol., Paris, 1954, Masson et C^{ie}, éditeur.
- (25) MAHOOD (J. A.), CABLE (O. F.). — Chemistry of wood IV. Analysis of Eucalyptus Globules and Pinus Monticola, *J. Ind. Eng. Chem.*, 1922, **14**, 933.
- (26) MOON (E.), ABOU RAYA (A. K.). — The lignin fraction of animal feeding-stuffs I. Preliminary Examination of lignin determination procedures, *J. of Science of Food and Agriculture*, 1952, **3**, 399.
- (27) NORMAN (A. G.). — The composition of crude fiber, *J. Agr. Sci.*, 1935, **25**, 529.
- (28) NORMAN (A. G.), JENKINS (S. H.). — A new method for the determination of cellulose based upon observations on the removal of lignin and other encrusting materials, *Biochem. J.*, 1933, **27**, 818.
- (29) SOMOGYI (M.). — Notes on sugar determination, *J. Biol. Chem.*, 1952, **195**, 19.

c) Calcul de la valeur énergétique.

- (30) ATWATER (W. O.). — 12th annual report of Storrs (Connecticut), *Agric. Exp. Station*, 1899, 69.
- (31) F. A. O. — La composition des aliments en principes nutritifs calorigènes et le calcul de leur valeur énergétique utile, Washington, 1947, F. A. O. éditeur.
- (32) FRANÇOIS (A. C.), LEROY (A. M.), ZELTER (S. Z.). — Processus digestifs des ruminants III. Etude in vitro de quelques phénomènes de digestibilité associative, *Ann. Zoot.*, 1955, **2**, 103.
- (33) GUILLEMET (R.), HAMEL (P.). — Premiers résultats obtenus dans l'étude de l'indigestible glucidique par la méthode à l'acide formique, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1945, **27**, 231.
- (34) GUILLEMET (R.), JACQUOT (R.). — Sur la valeur nutritive des différentes régions du grain de blé, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1944, **26**, 324.
- (35) GUILLEMET (R.), JACQUOT (R.), TREMOIÈRES (J.), ERFMAN (R.). — Sur la valeur nutritive de trois types de pain. Etude expérimentale poursuivie sur l'homme, *Bull. Ac. Medec.* 1944, **32**, **34**, 688.
- (36) GUILLEMET (R.), PRECEPTIS (P.). — Le dosage de la cellulose par dissolution formique de l'amidon et des protéides, *C. R. Ac. Agr.*, 1942, **28**, 383.
- (37) JACQUOT (R.). — L'indigestible glucidique et l'absorption intestinale : Application aux techniques analytiques de la chimie alimentaire, *Chimie Industrie*, 1946, **55**, 424.
- (38) JARRIGE (R.). — L'utilisation des glucides alimentaires par les ruminants, *Ann. Nut. Alim.*, 1953, **7**, 245.
- (39) LEROY (A. M.). — Utilisation de l'énergie des aliments par les animaux, *Annales Zootechnie*, 1954, **4**, 337.
- (40) MC CANCE (R. A.), WIDDOWSON (E. M.). — The chemical composition of foods, Medical Res. Council, Special Report N° 235, Londres, 1930, H. M. Stationery Off., éditeur.