

## RÉSUMÉ

Les fibres alimentaires sont des constituants de notre alimentation dont une plus forte consommation est encouragée. Dans ce contexte, il est nécessaire de disposer de dosages fiables à la fois pour quantifier l'apport en fibres des produits céréaliers mais aussi pour guider le développement de nouveaux produits plus riches en fibres permettant de répondre aux recommandations nutritionnelles. Dans cette étude, les principales méthodes de dosage des fibres totales ont été mises en œuvre sur des produits céréaliers à base de blé (grain, farine T55, issues, pain type 55, pain complet, pâtes complètes). Les résultats obtenus confirment que les valeurs en fibres totales (TDF, *Total dietary fiber*) de la méthode AOAC 985.29 correspondent aux valeurs en fibres de haute masse moléculaire (HM<sub>w</sub>DF) des méthodes 2001.03 et 2009.01. La fraction HM<sub>w</sub>DF n'inclut pas les oligosaccharides non digestibles, ni l'amidon résistant qui font partie de la définition des fibres alimentaires.

La méthode 2009.01 permet d'évaluer l'ensemble des fibres alimentaires avec des paramètres de fidélité comparable aux méthodes 985.29 ou 2001.03. Son utilisation pour des produits fabriqués à partir de farine de type 55 a une forte incidence sur la teneur en fibres totales, en raison de la proportion plus importante dans ces produits d'oligosaccharides non digestibles (non pris en compte par AOAC 985.29) et d'amidon résistant (non pris en compte par AOAC 985.29 et 2001.03).

# Comparaison des méthodes AOAC 985.29, 2001.03 et 2009.01 pour le dosage des fibres alimentaires dans les produits céréaliers à base de blé<sup>1</sup>

Christine BAR-L'HELGOUAC<sup>H2</sup>, Cécile BARRON<sup>3</sup>, Luc SAULNIER<sup>4</sup>

## Introduction

La consommation de fibres alimentaires est associée à une réduction du risque d'apparition de maladies ou de troubles liés à l'alimentation comme les maladies cardiovasculaires, le diabète, l'obésité et certains types de cancers (BROWN-LEE, 2011). De nombreuses études épidémiologiques montrent notamment l'association entre la réduction du risque de développer ces pathologies et la consommation d'aliments riches en fibres et en particulier de son de blé. Ainsi, les autorités sanitaires à travers le monde recommandent pour l'adulte de consommer 25 à 35 g de fibres par jour (EFSA, Panel of dietetic products, 2010a).

En France, la consommation de fibres chez l'adulte est évaluée à environ 17 g/jour et les produits céréaliers à base de blé sont devant les fruits et les légumes la principale source de fibres alimentaires dans l'alimentation des français. La quantité et la nature des fibres dans ces produits varient notamment en fonction du « raffinage » des farines (farine type 55 à complète de type 150) et des procédés de fabri-

cation des aliments. Par ailleurs, les mécanismes d'action des fibres alimentaires sont complexes et non totalement élucidés (**Encadré 1**). Face à la diversité des mécanismes d'action et de nature des fibres alimentaires, il est donc indispensable de s'accorder sur leur définition (**Encadré 2**) afin d'élaborer des méthodes de dosage permettant d'évaluer leur quantité dans les aliments.

Les fibres alimentaires sont constituées d'un mélange complexe de constituants glucidiques chimiquement hétérogènes et aux propriétés nutritionnelles diverses. Le dosage des différents constituants chimiques présents dans les fibres alimentaires nécessiterait de nombreuses méthodes analytiques.

Face au dosage spécifique de tel ou tel constituant des fibres, des méthodes globales de type « enzymatique-gravimétrique » se calant sur la définition « physiologique » des fibres ont été développées. Dans la première phase de leur développement, ces dosages se sont focalisés sur l'élimination enzymatique de l'amidon et des protéines et la récupération de la composante « fibre alimentaire » par pesée.

<sup>1</sup> Cet article est issu d'un poster présenté au 63<sup>e</sup> Journées Techniques des Industries Céréalières – Octobre 2012. Une mention dans la catégorie des applications à moyen terme a été décernée à ce poster.

<sup>2</sup> ARVALIS - Institut du végétal – Station expérimentale, 91170 Boigneville.

<sup>3</sup> INRA UMR 1208 IATE – 2 place Pierre Viala, 34060 Montpellier Cedex 1.

<sup>4</sup> INRA UR 1268 BIA – rue de la Géraudière, 44316 Nantes Cedex 3.



La méthode AOAC 985.29 développée par PROSKY *et al.*, (1988) a été largement adoptée et reste encore aujourd'hui très utilisée pour le dosages des fibres totales dans les aliments. Cette méthode néglige cependant les oligosaccharides non-digestibles et ne prend pas en compte l'amidon résistant.

La méthode 2001.03 (GORDON et OKUMA, 2002 ; OHKUMA *et al.*, 2000) dérive de la méthode AOAC 985.29 en intégrant à la suite du dosage enzymatique-gravimétrique, un dosage des oligosaccharides non digestibles de faible masse moléculaire par chromatographie liquide. Toutefois, les méthodes AOAC 985.29 et 2001.03 en raison de l'utilisation d'une alpha-amylase thermostable utilisée à haute température

pour l'élimination de l'amidon sous-estimé la proportion d'amidon résistant dans les aliments.

La méthode AOAC 2009.01 (McCLEARY *et al.*, 2010 ; McCLEARY, 2007) est la dernière évolution de ces méthodes

**Tableau I. Méthodes de dosage des fibres totales (TDF)**

AOAC 985.29	AOAC 2001.03	AOAC 2009.01
<i>Digestion enzymatique « in vitro »</i>		
$\alpha$ -amylase 95 °C 15 min		$\alpha$ -amylase 37 °C 16 h
<i>Récupération et dosage des fibres</i>		
Pesée des fibres solubles et insolubles de haute masse moléculaire = <b>HM<sub>w</sub>DF</b>		
	Dosage des fibres de faible masse moléculaire par HPLC = <b>LM<sub>w</sub>DF</b>	
<b>TDF = HM<sub>w</sub>DF</b>	<b>TDF = HM<sub>w</sub>DF + LM<sub>w</sub>DF</b>	<b>TDF = HM<sub>w</sub>DF + LM<sub>w</sub>DF</b> <i>Amidon résistant inclus</i>

### Les différents mécanismes d'action des fibres

#### Effet des fibres solubles visqueuses

Les arabinoxylanes (AX) et les bêta-glucanes de l'albumen des céréales sont des polymères hydrosolubles de forte masse moléculaire qui induisent une augmentation de la viscosité du bol alimentaire à l'origine des effets hypoglycémiant et hypocholestérolémiant (BROWNLEE, 2011 ; GEMEN *et al.*, 2011 ; GUNNESS et GIDLEY, 2010 ; SMITH et TUCKER, 2011). L'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a émis un avis positif sur l'effet hypoglycémiant des AX d'albumen de blé. Pour obtenir l'effet, 8 g de fibre d'albumen riche en AX pour 100 g de glucides disponibles doivent être consommés (EFSA, Panel of dietetic products, 2011). Pour les bêta-glucanes d'avoine, l'avis émis porte sur la réduction du taux de cholestérol dans le sang avec une consommation d'au moins 3 g par jour (EFSA, Panel of dietetic products, 2010b).

#### Effet des fibres fermentescibles

Une part essentielle des bénéfices pour la santé de la consommation de fibres est attribuée à leur fermentation par la flore intestinale et à la production d'acide gras volatils qui en découle (AGV : acide acétique, propionique et butyrique) ainsi qu'aux modifications de la flore en fonction de la nature des fibres (BROWNLEE, 2011 ; SMITH et TUCKER, 2011). Parmi les AGV, un intérêt particulier est porté au butyrate qui est la principale source d'énergie des colonocytes. Le butyrate est également impliqué dans le contrôle de la prolifération cellulaire, et joue un rôle anti-inflammatoire. Les effets anti-inflammatoires associés au butyrate et plus généralement aux fibres fermentescibles participeraient à une cascade complexe d'événements métaboliques affectant la régulation hormonale au niveau du côlon, la production d'insuline et le métabolisme des glucides (GALISTEO *et al.*, 2008).

De nombreuses études ont montré que les AX sont butyrogènes et favorisent le développement de bifidobactéries et des lactobacilles (BROEKAERT *et al.*, 2011 ; NEYRINCK *et al.*, 2011). Les études sont plus rares pour les bêta-glucanes, mais des données récentes suggèrent leur action bifidogène (MITSOU *et al.*, 2010). D'autres sources de fibres favorisent la production de butyrate comme l'inuline et les fructo-oligosaccharides dérivés de l'inuline. Par ailleurs, l'amidon résistant présent dans les produits céréaliers est connu pour produire lors de la fermentation colique d'importantes quantités de butyrate (CHAMP *et al.*, 2003).

#### Autres effets des fibres

D'une manière générale, la consommation de fibres et en particulier des sons de céréales augmente la masse des selles et diminue le temps de transit intestinal. On observe en effet un accroissement de la biomasse bactérienne mais aussi des effets mécaniques liés à la taille des particules (en particulier pour les fibres insolubles et non-fermentescibles) agissant sur la motricité du côlon et sur l'épaisseur de la couche de mucus recouvrant la paroi intestinale, favorisant sa lubrification. À cet égard, les effets bénéfiques du « son de blé » sont reconnus par l'EFSA (EFSA, Panel of dietetic products, 2010c). Pour porter l'allégation sur l'augmentation de la masse des selles, les aliments doivent être riches en fibres (teneur > 6 g/100 g). Le comité de l'EFSA considère que, pour obtenir l'effet revendiqué sur le transit intestinal, au moins 10 g par jour de fibre de son de blé doivent être consommés en une ou plusieurs portions (EFSA, Panel of dietetic products, 2010c).

Par ailleurs la capacité des fibres à capter des composés toxiques et à transporter d'autres composés bioactifs, qui leur sont associés dans les produits végétaux (phytohormones, composés phénoliques anti-oxydants, vitamines, minéraux...), participe vraisemblablement à leurs effets bénéfiques sur la santé (FARDET, 2010 ; SAURA-CALIXTO, 2010).

« enzymatique-gravimétrique ». Elle adopte une digestion enzymatique de l'amidon dans des conditions « physiologiques » compatibles avec la quantité d'amidon résistant mesuré *in vivo* sur l'homme (CHAMP *et al.*, 2003).

Les principales caractéristiques analytiques des méthodes AOAC 985.29, 2001.03 et 2009.01 sont rappelées dans le **Tableau I**.

Bien que ces méthodes aient été largement validées par différents essais interlaboratoires, il n'existe pas de données comparant leur utilisation sur des produits céréaliers à base de blé et utilisant une technique commune pour l'analyse statistique des résultats (ISO, décembre 1994).

Dans le cadre du projet ANR WHEAFI qui vise à sélectionner les sources de fibres du grain de blé pour leur intérêt nutritionnel, nous avons choisi de réaliser cette comparaison de méthodes, tant du point de vue de la fidélité (répétabilité et reproductibilité) des résultats que des teneurs obtenues en utilisant des produits céréaliers représentatifs de la diversité des teneurs et de la nature des fibres, en allant des issues à la farine type 55 (T55) et des pâtes complètes au pain courant (T55).

## Matériels et méthodes

### Les matières premières

7 matrices ont été choisies :

- grains de blé (variété Caphorn),
- farine T55 (variété Caphorn),
- issues (mélange proportionnel des issues de la mouture Caphorn),
- pain type 55 (panification selon la méthode NF V03-716) à partir de la farine T55,
- pain complet réalisé à partir d'un mélange prêt à l'emploi fourni par la société Nutrixa,
- pâtes « complètes » du commerce crues et cuites.

Les grains de blé proviennent d'un lot de la variété Caphorn (récolte 2010, origine Loiret, 45). La farine T55 ainsi que les issues ont été produites avec le lot de blé de la variété Caphorn sur le moulin pilote de l'ENILIA-ENSMIC

(Surgères, 17). Les pains type 55 et complet ont été fabriqués au fournil expérimental d'ARVALIS (Boigneville, 91). Les pâtes complètes ont été achetées dans le commerce (même lot de fabrication). Le protocole standardisé de cuisson des pâtes de la norme NF ISO 7304 de juin 1989 a été adopté : 100 g de pâtes ont été cuits dans 2 litres d'eau d'Évian bouillante salée avec 14 g de NaCl. Le temps de cuisson est celui préconisé par le fabricant, 10 minutes (ISO, juin 1989).

Les échantillons de blé, de farine et d'issues ont été préparés par le BIPEA (Bureau interprofessionnel d'études analytiques, Gennevilliers, 92) afin d'obtenir des échantillons parfaitement homogènes avant envoi aux partenaires. Les pains ont été séchés à l'étuve à 40 °C et envoyés sous forme d'un pain entier aux différents partenaires de l'étude. Chaque laboratoire partenaire a appliqué sa procédure habituelle de préparation des échantillons, notamment pour la phase de broyage. Concernant les pains, il a été convenu que chaque laboratoire réalise le broyage de l'intégralité du pain reçu avant le prélèvement pour analyse.

### Les méthodes d'analyse

6 laboratoires partenaires (Eurofins, Inzo, Isha, Crecerpal-Panzani, Roquette et Ulice) ont participé à l'étude. Les méthodes AOAC 985.29 (PROSKY *et al.*, 1988), 2001.03 (GORDON et OKUMA, 2002) et 2009.01 (McCLEARY *et al.*, 2010) ont été mises en œuvre selon les modes opératoires développés par les différents laboratoires validés d'après les méthodes AOAC.

Les produits ont été analysés par la méthode AOAC 985.29 par l'ensemble des laboratoires, la méthode AOAC 2001.03 par 2 des laboratoires et la méthode AOAC 2009.01 par 3 des laboratoires. Tous les produits ont été analysés en double par chaque laboratoire.

Les résultats sont exprimés en g/100 g de matière sèche.

La méthode AOAC 985.29 fournit uniquement la teneur en fibres totales (TDF, *Total dietary fiber*), pour les méthodes 2001.03 et 2009.01 la teneur en fibres totales (TDF) est décomposée en fibres de haute masse moléculaire (HM<sub>w</sub>DF)

issues du dosage enzymatique-gravimétrique et en fibres de faible masse moléculaire issues du dosage par chromatographie en phase liquide (LM<sub>w</sub>DF).

### Définition des fibres alimentaires par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA)

La définition retenue par les autorités européennes (EFSA, Panel of dietetic products, 2010a) regroupe sous le terme de fibres alimentaires les polymères glucidiques composés de trois unités monomériques ou plus, qui ne sont ni digérés ni absorbés dans l'intestin grêle humain et appartiennent à l'une des catégories suivantes :

- polymères glucidiques comestibles, présents naturellement dans la denrée alimentaire telle qu'elle est consommée,
- polymères glucidiques comestibles qui ont été obtenus à partir de matières premières alimentaires brutes par des moyens physiques, enzymatiques ou chimiques et ont un effet physiologique bénéfique démontré par des données scientifiques généralement admises,
- polymères glucidiques comestibles synthétiques qui ont un effet physiologique bénéfique démontré par des données scientifiques généralement admises.

Dans le cas des produits céréaliers à base de blé, cette définition recouvre essentiellement :

- les polymères glucidiques de la paroi végétale qui peuvent être associés à de la lignine ou d'autres composés non glucidiques tels que les composés phénoliques, les cires, les saponines, les phytates, la cutine et les phytostérols,
- les oligosaccharides non digestibles présents dans les différents tissus du grain et en particulier dans l'albumen,
- les amidons résistants dont les quantités dépendent du procédé de fabrication de l'aliment.

L'allégation nutritionnelle « source » de fibres ou « riche » en fibres correspond à des produits contenant au moins 3 g (source) ou au moins 6 g (riche) de fibres pour 100 g d'aliment (CE, 2006).

**Tableau II. Fibres totales (TDF) en g/ 100 gms déterminées par les méthodes AOAC 985.29, 2001.03 et 2009.01 sur 7 produits céréaliers à base de blé.**

Produit et teneur en eau	Méthode Nombre labos	2001.03 (2)			2009.01 (3)		
	985.29 (5)	HM <sub>w</sub> DF	LM <sub>w</sub> DF	TDF	HM <sub>w</sub> DF	LM <sub>w</sub> DF	TDF
Blé (13,5 %)	14,6 (12,1-17,2)	14,4 (12,1-17,4)	2,0 (1,0-3,1)	16,4 (15,1-18,4)	14,9 (12,8-19,5)	3,4 (2,6-4,3)	18,3 (16,7-22,4)
Farine (11,1 %)	4,4 (3,1-6,3)	3,2 (3,0-3,5)	1,6 (0,6-2,5)	4,7 (3,7-5,6)	4,0 (3,5-5,3)	3,4 (2,6-4,1)	7,5 (6,9-8,6)
Issues (10,4 %)	54,5 (51,4-63,6)	52,5 (51,4-53,5)	2,8 (1,3-4,2)	55,3 (54,8-55,8)	51,3 (49,3-54,4)	3,9 (2,8-5,1)	55,2 (53,1-57,3)
Pain T55 (9,3 %)*	5,1 (4,4-6,5)	4,5 (4,2-4,7)	1,4 (0,7-2,1)	5,9 (5,2-6,6)	5,7 (5,3-6,5)	2,1 (1,3-3,7)	7,8 (7,2-9)
Pain complet (10,2 %)*	12,1 (10,7-14,1)	11,5 (10,8-12,8)	1,2 (0,5-1,9)	12,7 (11,3-13,3)	12,7 (11,8-13,9)	2,0 (1,2-3,5)	14,8 (13,1-15,9)
Pâtes crues (11,1 %)	7,5 (6,6-8,9)	7,3 (6,6-8,0)	1,2 (0,6-1,8)	8,5 (8,4-8,6)	7,5 (7,0-9,4)	2,8 (2,3-3,6)	10,3 (9,4-11,8)
Pâtes cuites (63,8 %)	10,8 (6,7-16,3)	8,6 (7,9-9,2)	1,0 (0,6-1,4)	9,6 (9,2-10,1)	9,3 (8,6-10,1)	2,3 (1,3-3,0)	11,6 (10,9-12,1)

Les valeurs moyennes sont indiquées sur la première ligne ; les valeurs minimum et maximum mesurées sont entre parenthèses.

\* Les pains ont été séchés

HM<sub>w</sub>DF : Fibres solubles et insolubles de haute masse moléculaire

LM<sub>w</sub>DF : Fibres de faible masse moléculaire mesurées par HPLC

## Résultats et discussion

### Teneur en fibres des différentes matrices céréaliers

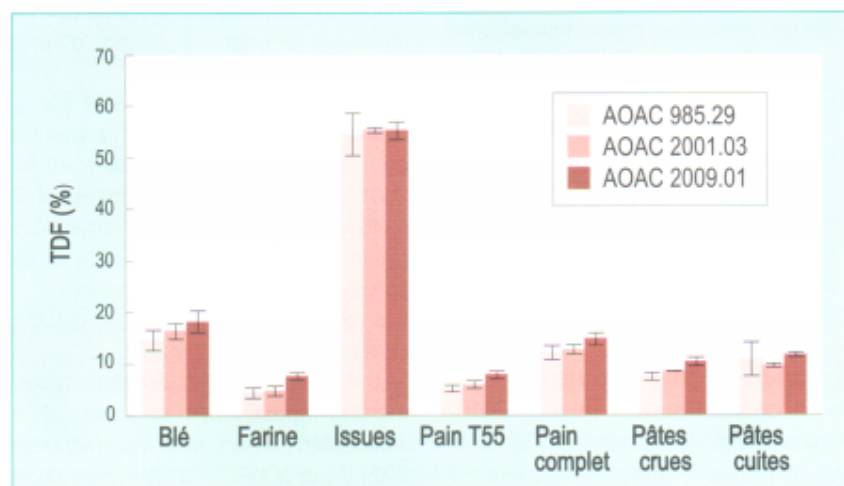
Les valeurs moyennes obtenues par les différents laboratoires d'analyse sur les 7 matrices céréaliers sont présentées dans le **Tableau II** et la **Figure 1**. Ces valeurs sont indiquées en matière sèche et il est nécessaire de prendre en compte la teneur en eau pour connaître l'apport en fibres alimentaires de 100 g d'aliment. Comme attendu, les teneurs en fibres totales sont très fortes pour les issues (TDF > 50 %), autour de 15 % pour le grain de blé et légèrement plus faible pour les pâtes et le pain complet. La farine T55 et le pain type 55 présentent les plus faibles teneurs autour de 5 %. Ces écarts sont représentatifs de la diversité des produits céréaliers sur ce critère. En première approximation, les mêmes tendances sont observées avec les trois méthodes, avec une différence systématique entre les méthodes pour le taux de fibres des différents produits :

$TDF_{985.29} < TDF_{2001.03} < TDF_{2009.01}$

### Fidélité comparée des différentes méthodes

Avant de comparer plus finement ces résultats, les données issues du plan d'expérience décrit dans le paragraphe « matériels et méthodes » ont été traitées selon les recommandations de la norme NF ISO 5725 (ISO, décembre 1994) pour chacune des 3 méthodes mises en œuvre. Les paramètres de fidélité, à savoir la limite de répétabilité

et la limite de reproductibilité, ont été estimées pour chacune d'elles. L'estimation de l'écart type de répétabilité a été réalisée avec les résultats des 2 répétitions fournies par les laboratoires (ce qui est le minimum requis par la norme). Les répétitions correspondent à 2 prises d'essai sur le même produit (grain, farine, issues, broyat de pain, broyat de pâte). L'estimation de l'écart type de reproductibilité introduit l'effet du laboratoire qui a mis en œuvre la



**Figure 1. Teneur en fibres totales déterminées par les méthodes AOAC 985.29, 2001.03 et 2009.01.**

méthode selon sa procédure habituelle validée. Chacune des méthodes n'ayant pas été conduite dans le même nombre de laboratoires (6 pour la méthode AOAC 985.29, 3 pour AOAC 2009.02 et 2 pour AOAC 2001.03), la comparaison des résultats de limites de reproductibilité entre les 3 méthodes doit rester prudente.

L'analyse statistique des données implique les étapes suivantes.

- *Un examen critique des données afin d'évaluer les données aberrantes.* Le test de Cochran est utilisé pour détecter les variances de répétabilité isolées

ou aberrantes et le test de Grubbs pour détecter les moyennes isolées ou aberrantes.

- *L'estimation des valeurs moyennes et des écarts types de fidélité par matrice.* Pour ce faire, des analyses de variance à un facteur sont réalisées pour chaque critère et pour chaque échantillon afin de déterminer la variabilité à l'intérieur des groupes (répétabilité) et entre les groupes (reproductibilité)
- *L'établissement d'une relation ou non entre fidélité et niveau moyen.* Pour cela on réalise un graphique entre les niveaux moyens obtenus à partir de chacune des matrices et les écarts

type de répétabilité ( $S_r$ ) et de reproductibilité ( $S_R$ ) estimés. Si la relation est linéaire, l'écart type est calculé à partir de l'équation de la droite de régression ; si la relation est constante, l'écart est la moyenne des écarts types estimés sur les différentes matrices.

- *Le calcul des limites de répétabilité ( $r$ ) et de reproductibilité ( $R$ ) en appliquant les formules ci-dessous à un niveau d'intervalle de confiance de 95 % :*

$$r = S_r \times 1,96\sqrt{2} = S_r \times 2,77$$

$$R = S_R \times 1,96\sqrt{2} = S_R \times 2,77$$

La limite de répétabilité est utilisée pour comparer 2 résultats individuels obtenus sur le même échantillon dans des conditions les moins variables possibles. La limite de reproductibilité sera utilisée pour comparer 2 résultats individuels obtenus dans 2 laboratoires différents.

La mise en œuvre des tests de Cochran et de Grubbs n'a pas conduit à l'élimination de données ni de laboratoires pour une méthode. Dans tous les cas, les écarts type de répétabilité et de reproductibilité ont été considérés comme constants et sont donc la moyenne des résultats obtenus pour chacune des 7 matrices. Le **Tableau III** regroupe l'ensemble des résultats obtenus. Il montre que les limites de répétabilité sont comparables entre les 3 méthodes (entre 1 et 1,9). Cette limite signifie que 2 résultats individuels qui diffèrent de 1,75 points (pour la méthode 2009.01) ne peuvent pas être considérés comme différents. Les limites de reproductibilité sont également comparables (entre 2,3 et 5,4), ce qui signifie que 2 résultats individuels provenant de 2 laboratoires qui diffèrent de 3,3 points (pour la méthode 2009.01) ne peuvent pas être considérés comme différents. Ces résultats peuvent sembler élevés. Ils ont été comparés aux résultats de la bibliographie, exploités statistiquement de la même façon (**Tableau IV**). La comparaison montre que les résultats obtenus dans le cadre de cette étude collaborative sont tout à fait comparables à ceux de la bibliographie (GORDON et OKUMA, 2002 ; McCLEARY et al., 2010, PROSKY et al., 1988) voire meilleurs car l'étude a été ciblée sur un nombre plus faible de matrices, réduites

**Tableau III. Paramètres de fidélité des 3 méthodes (exploitation des données du travail collaboratif).**

Méthode AOAC	985.29	2001.03	2009.01
Nombre de laboratoires	5	2	3
Domaine de validité (% de la teneur en fibres)	4,4 - 54,5	4,7 - 55,3	7,5 - 55,2
Écart type de répétabilité ( $S_r$ )	0,67	0,37	0,63
Coefficient de variation $CV_r$ ( $S_r$ / moyenne en %)	4,3 %	2,3 %	3,5 %
Limite de répétabilité ( $r$ )	1,9	1	1,75
Écart type de reproductibilité ( $S_R$ )	1,95	0,84	1,2
Coefficient de variation $CV_R$ ( $S_R$ / moyenne en %)	12,6 %	3,2 %	6,7 %
Limite de reproductibilité ( $R$ )	5,4	2,3	3,3

**Tableau IV. Paramètres de fidélité des 3 méthodes (exploitation des données de la bibliographie).**

Méthode AOAC	985.29	2001.03	2009.01
Source	PROSKY et al., 1988. <i>J. Assoc. Off. Anal. Chem.</i> , <b>71</b> , 1017-1023.	GORDON et OKUMA, 2002. <i>J AOAC Int.</i> , <b>85</b> , 435-444.	McCLEARY et al., 2010. <i>J. AOAC Int.</i> , <b>93</b> , 221-233.
Domaine de validité (% de la teneur en fibres)	1 - 87,2	1,4 - 38	10,5 - 30
Écart type de répétabilité ( $S_r$ )	0,65	0,45	0,83
Coefficient de variation $CV_r$ ( $S_r$ / moyenne en %)	3,1 %	2,7 %	4,2 %
Limite de répétabilité ( $r$ )	1,8	1,2	2,3
Écart type de reproductibilité ( $S_R$ )	1,2	0,7	1,95
Coefficient de variation $CV_R$ ( $S_R$ / moyenne en %)	5,5 %	4,1 %	9,8 %
Limite de reproductibilité ( $R$ )	3,2	1,9	5,4

**Tableau V. Écart en pourcentage entre les teneurs en fibre totale mesurées par les méthodes AOAC 985.29 et 2009.01.**

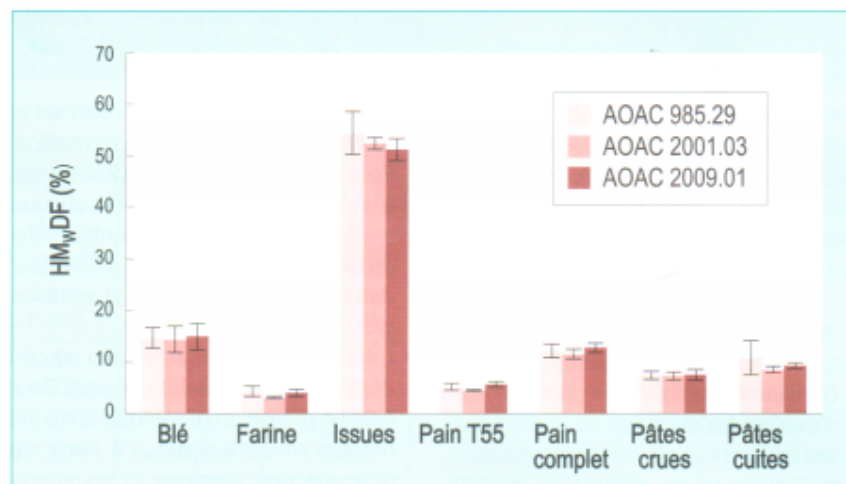
Issues	1,3
Pâtes cuites	11,5
Pain complet	19,7
Blé	25,2
Pâtes crues	37,6
Pain T55	53,5
Farine T55	70

aux produits céréaliers. La prise en compte des paramètres de fidélité des méthodes est donc indispensable dans l'interprétation de résultats de mesure de teneurs en fibres.

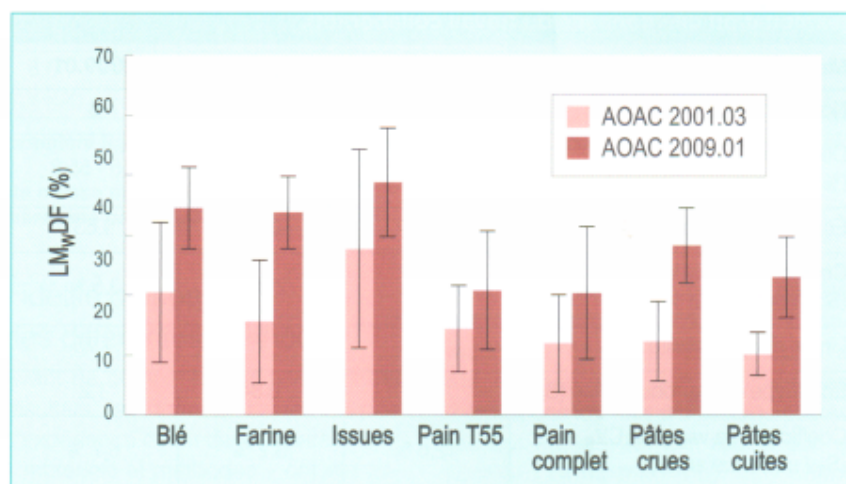
### Comparaison des résultats entre méthodes

Des écarts significatifs de la teneur en fibres totales sont observés entre la méthode AOAC 985.29 qui ne dose que les fibres de haute masse moléculaire et les méthodes AOAC 2001.03 et 2009.01 qui intègrent les fibres solubles de faible masse moléculaire (LM<sub>w</sub>DF). Les écarts observés entre les méthodes 985.29 et 2009.01 sont présentés dans le **Tableau V**. Ainsi, la méthode AOAC 2009.01 mesure une teneur en fibres en moyenne de 20 % plus importante que la méthode AOAC 985.29, et l'écart entre les deux méthodes qui est négligeable pour les issues est considérable pour les matrices à faible teneur en fibres avec une différence de 70 % pour la farine et de plus de 50 % pour le pain T55.

Les résultats du dosage des fibres de haute masse moléculaire (HM<sub>w</sub>DF) par les méthodes AOAC 2001.03 et 2009.01 et des fibres totales (TDF) de la méthode AOAC 985.29 sont très proches (**Figure 2**). Ce résultat n'est pas surprenant puisque les méthodes 2001.03 et 2009.01 fonctionnent selon le même principe que la méthode 985.29 pour la récupération des fibres solubles et insolubles de haute masse moléculaire. Il est toutefois remarquable de constater que l'utilisation de conditions « physiologiques » de dégradation de l'amidon



**Figure 2. Teneur en fibres solubles et insolubles de haute masse moléculaire déterminées par les méthodes AOAC 985.29, 2001.03 et 2009.01.**



**Figure 3. Teneur en fibres de faible masse moléculaire déterminées par les méthodes AOAC 2001.03 et 2009.01.**

dans le cadre de la méthode 2009.01 n'affecte pas la récupération des fibres solubles et insolubles de haute masse moléculaire. En conséquence :

$$TDF_{985.29} = HM_{w}DF_{2001.03} = HM_{w}DF_{2009.01}$$

Par contre, un écart sur les teneurs en fibres solubles de faible masse moléculaire (LM<sub>w</sub>DF) est constaté entre les méthodes 2001.03 et 2009.01 (**Figure 3**). Cet écart explique le fait que les teneurs en fibres totales (TDF) mesurées avec la méthode 2009.01 soient systématiquement plus fortes qu'avec la méthode 2001.03 :

$$TDF_{2009.01} > TDF_{2001.03}$$

La composition des fibres solubles de faible masse moléculaire isolées par la méthode AOAC 2009.01 a été analysée par d'autres auteurs (BRUNT et SANDERS, 2012). Ces fibres sont principalement constituées de glucose sous

forme de maltodextrines et de fructose provenant des fructanes solubles. Les grains de céréales présentent en effet des teneurs non négligeables en fructanes évaluées précisément uniquement dans quelques études. Dans le blé, cette teneur est de l'ordre de 2 % sur le grain entier, de 1,5 % dans la farine T55 et de 3,6 % dans les issues (HASKA *et al.*, 2008). Dans la méthode 2001.03, les fructanes solubles sont quantifiés mais on ne retrouve pas de maltodextrines car elles sont totalement hydrolysées en glucose par l'alpha-amylase thermostable utilisée dans le protocole. Dans le cas de la méthode 2009.01, les conditions d'hydrolyse de l'amidon simule les conditions « physiologiques » et les maltodextrines détectées dans la fraction LM<sub>w</sub>DF correspondent ainsi à la fraction « amidon résistant ».

## Conclusions

Les méthodes AOAC 985.29, 2001.03 et 2009.01 présentent des paramètres de fidélité comparables entre elles. Leur limite de reproductibilité est de l'ordre de 3,5 points (c'est-à-dire que 2 résultats individuels issus de 2 laboratoires ne peuvent pas être considérés comme différents si leur différence est inférieure à 3,5 points de fibres) ; cette valeur est comparable à celle évaluée à partir des données d'autres études collaboratives de la littérature (Tableau IV).

L'analyse du principe de fonctionnement des méthodes et des résultats obtenus dans cette étude confirme que les valeurs en fibres totales (TDF) de la méthode AOAC 985.29 et que les valeurs en fibres de haute masse moléculaire (HM<sub>w</sub>DF) des méthodes 2001.03 et 2009.01 sont équivalentes. Ces fibres de haute masse moléculaire sont solubles et insolubles, ces dernières étant toutefois majoritaires en particulier dans les matrices à forte teneur en fibres, comme les issues. Dans les produits à base de blé, ces fibres de haute masse moléculaire sont essentiellement constituées d'arabinoxylanes qui sont les principaux polysaccharides des parois végétales de l'albumen, de la couche aleurone et des enveloppes externes du grain (SAULNIER *et al.*, 2007).

Cette fraction fibres de haute masse moléculaire n'inclut pas les oligosaccharides non digestibles, ni l'amidon résistant qui font partie de la définition des fibres alimentaires. Les fructanes sont les principaux oligosaccharides non digestibles du blé ; leur quantité de l'ordre de 1 à 2 % est estimée dans les méthodes 2001.03 et 2009.01 dans la fraction fibres de faible masse moléculaire (LM<sub>w</sub>DF). Du point de vue de leur mise en œuvre, ces deux méthodes ne diffèrent que par l'étape d'hydrolyse enzymatique de l'amidon qui dans le cas de la méthode 2009.01 permet de préserver l'amidon résistant et de le doser dans les fractions de faible masse moléculaire (LM<sub>w</sub>DF) sous forme de maltodextrines.

La méthode 2009.01 permet donc d'évaluer l'ensemble des fibres alimentaires avec une fidélité comparable aux méthodes 985.29 ou 2001.03. Son utilisation pour des produits fabriqués à

partir de farine de type 55 a une forte incidence sur la teneur en fibres totales, en raison de la proportion plus importante dans ces produits d'oligosaccharides non digestibles et d'amidon résistant. Par ailleurs, la quantité d'amidon résistant est susceptible de changer significativement en fonction des traitements de cuisson ou de conservation des produits. Ainsi, dans le cadre du projet WHEAFI, à côté du dosage des fibres par la méthode AOAC 2009.01, un dosage spécifique de l'amidon résistant (méthode AOAC 2002.02) est effectué dans les produits transformés par cuisson (pâtes, biscuits et pains) afin de mieux évaluer l'impact des procédés sur la teneur en fibres des produits.

## Remerciements

Ce travail a été réalisé avec le soutien financier de l'Agence nationale de la recherche (ANR) dans le cadre du projet ANR-ALIA 2010 WHEAFI : « Évaluation des propriétés anti-inflammatoires de différentes sources de fibres alimentaires du grain de blé ». Ce projet rassemble 8 partenaires : ANMF, ARVALIS - Institut du végétal, CNRH Nantes, INRA, IRTAC, KRAFT Food, NUTRIXO, PANZANI. Nous remercions F. MARTIN (Eurofins), S. DARROZES (Inzo), A. ASSIE (Isha), B. CAMELI (Crecepal-Panzani), P. LOOTEN (Roquette) et L. LINOSSIER (Ulisse) pour leur contribution à la mise en place et à la réalisation de cette étude et pour leur participation à l'analyse des résultats. ■

## Références bibliographiques

**BROEKAERT W.F., COURTIN C.M., VERBEKE K., VAN DE WIELE T., VERSTRAETE W., DELCOUR J.A.**, 2011. Prebiotic and other health-related effects of cereal-derived arabinoxylans, arabinoxylan-oligosaccharides, and xylooligosaccharides. *Crit. Rev. Food Sci.*, **51(2)**, 178-194.

**BROWNLEE I.A.**, 2011. The physiological roles of dietary fibre. *Food Hydrocolloids*, **25(2)**, 238-250.

**BRUNT K., SANDERS P.**, 2012. Characterization of SFDS of wheat grain based foods. Suggestion for improvement of AOAC 2009.01 for high starch containing matrices. *Workshop: Analysis of dietary fiber*, 7-9 mai, Rome.

**CE**, 2006. Règlement du parlement européen et du conseil du 20 décembre 2006 concernant les allégations nutritionnelles et de santé portant sur les denrées alimentaires. *Journal Officiel de l'Union Européenne*, CE N°1924/2006.

**CHAMP M., LANGKILDE A.M., BROUNS F., KETTLITZ B., LE BAIL-COLLET Y.**, 2003. Advances in dietary fibre characterisation. 2. Consumption, chemistry, physiology and measurement of resistant starch; implications for health and food labelling. *Nutr. Res. Rev.*, **16(2)**, 143-161.

**EFSA Panel on dietetic products**, 2010a. Scientific opinion on dietary reference values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal*, **8(3)**, 1462-1539.

**EFSA Panel on dietetic products**, 2010b. Scientific opinion on the substantiation of a health claim related to oat beta-glucan and lowering blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease. *EFSA Journal*, **8(12)**, 1885-1900.

**EFSA Panel on dietetic products**, 2010c. Scientific opinion on the substantiation of health claims related to wheat bran fibre and increase in faecal bulk (ID 3066), reduction in intestinal transit time (ID 828, 839, 3067, 4699) and contribution to the maintenance or achievement of a normal body weight (ID 829). *EFSA Journal*, **10(8)**, 1817-1835.

**EFSA Panel on dietetic products**, 2011. Scientific opinion on the substantiation of health claims related to arabinoxylan produced from wheat endosperm and reduction of post-prandial glycaemic responses. *EFSA Journal*, **9(6)**, 2205-2220.

**FARDET A.**, 2010. New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: what is beyond fibre? *Nutr. Res. Rev.*, **23(01)**, 65-134.

**GALISTEO M., DUARTE J., ZARZUELO A.**, 2008. Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. *J. Nutr. Biochem.*, **19(2)**, 71-84.

**GEMEN R., DE VRIES J.F., SLAVIN J.L.**, 2011. Relationship between molecular structure of cereal dietary fiber and health effects: focus on glucose/insulin response and gut health. *Nutr. Rev.*, **69(1)**, 22-33.

**GORDON D.T., OKUMA K.**, 2002. Determination of total dietary fiber in selected foods containing resistant maltodextrin by enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography: collaborative study. *J. AOAC Int.*, **85(2)**, 435-444.

**GUNNESS P., GIDLEY M.J.**, 2010. Mechanisms underlying the cholesterol-lowering properties of soluble dietary fibre polysaccharides. *Food Funct.*, **1(2)**, 149-155.

**ACROTIR®**

[www.acrotir.com](http://www.acrotir.com)



*L'Art de Penser  
Sécurité*

**Energie - Industrie  
Génie Civil - BTP**

**Sécurité et  
accès difficiles**

Etude, Audit, Assistance à Maitrise d'Ouvrage,  
Poseur Agréé, Formation, Accompagnement,  
Suivi, Contrôle des Équipements de sécurité.  
Spécialiste des travaux en Milieux Confinés et ATEX

**5 IMPLANTATIONS**  
3 en France + Luxembourg + Guyane

   
Certification 1452  
Qualifications 4411/4441

Siège :  
44 bis avenue de Gerbéviller  
54300 LUNEVILLE

**Tél. : 03 83 73 15 15**

**HASKA L., NYMAN M., ANDERSSON R.**, 2008. Distribution and characterisation of fructan in wheat milling fractions. *J. Cereal Sci.*, **48(3)**, 768-774.

**ISO** (décembre 1994). Application de la statistique - Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure. *NF ISO 5725*.

**ISO** (juin 1989). Semoules de blé dur et pâtes alimentaires : appréciation de la qualité culinaire des spaghetti par analyse sensorielle. *NF ISO 7304*.

**MC CLEARY B.V.**, 2007. An integrated procedure for the measurement of total dietary fibre (including resistant starch), non-digestible oligosaccharides and available carbohydrates. *Anal. Bioanal. Chem.*, **389(1)**, 291-308.

**MC CLEARY B., DE VRIES J., RADER J., COHEN G., PROSKY L., MUGFORD D., CHAMP M., OKUMA K.**, 2010. Determination of total dietary fiber (CODEX definition) by enzymatic-gravimetric method and liquid chromatography: collaborative study. *J. AOAC Int.*, **93(1)**, 221-233.

**MITSOU E.K., PANOPOULOU N., TURUNEN K., SPILLOTIS V., KYRIACOU A.**, 2010. Prebiotic potential of barley derived beta-glucan at low intake levels: A randomised, double-blinded, placebo-controlled clinical study. *Food Res. Int.*, **43(4)**, 1086-1092.

**NEYRINCK A.M., POSSEMIERS S., DRUART C., VAN DE WIELE T., DE BACKER F., CANI P.D., LARONDELLE Y., DELZENNE N.M.**, 2011. Prebiotic effects of wheat arabinoxylan related to the increase in bifidobacteria, roseburia and bacteroides/prevotella in diet-induced obese mice. *Plos One*, **6(6)**.

**OHKUMA K., MATSUDA I., KATTA Y., TSUJI K.**, 2000. New method for determining total dietary fiber by liquid chromatography. *J. AOAC Int.*, **83(4)**, 1013-1019.

**PROSKY L., ASP N.-G., SCHWEIZER T.F., DE VRIES J.W., FURDA I.**, 1988. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fibre in foods and food products. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **71(5)**, 1017-1023

**SAULNIER L., SADO P.-E., BRANLARD G., CHARMET G., GUILLON F.**, 2007. Wheat arabinoxylans: exploiting variation in amount and composition to develop enhanced varieties. *J. Cereal Sci.*, **46(3)**, 261-281.

**SAURA-CALIXTO F.**, 2010. Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. *J. Agr. Food Chem.*, **59(1)**, 43-49.

**SMITH C.E., TUCKER K.L.**, 2011. Health benefits of cereal fibre: a review of clinical trials. *Nutr. Res. Rev.*, **24(1)**, 118-131.