

Les pertes iléales azotées endogènes chez le porc

Effet de la composition, de la mouture et du taux d'incorporation des fibres internes de la graine de pois dans les aliments

P. LETERME, E. FROIDMONT, A. THÉWIS

Faculté Universitaire des Sciences agronomiques. UER de Zootechnie
2, passage des Déportés, B-5030 Gembloux, Belgique

Avec la collaboration technique de L. GIVRON, Geneviève JEAN, J.-P. HAULOTTE et Th. MONMART

Les pertes iléales chez le porc. Effet de la composition, de la mouture et du taux d'incorporation des fibres internes de la graine de pois dans les aliments

L'effet de la composition chimique, de la mouture et du taux d'incorporation des fibres internes de la graine de pois dans les aliments sur les pertes iléales endogènes chez le porc a été étudié au cours de trois essais successifs. L'ingestion de fibres et d'amidon de pois ridés a légèrement augmenté les pertes iléales d'acides aminés endogènes par rapport à celle de pois lisses. L'incorporation de fibres micronisées (< 50 µm) dans un régime protéoprive a fait chuter les pertes endogènes de moitié par rapport aux fibres non traitées. La capacité de rétention en eau de ces dernières est beaucoup plus élevée que celles des fibres micronisées (13 vs 4 g eau/kg MS). L'ajout de taux croissants de fibres dans le régime (5, 10, 15, 20 % de fibres brutes, soit 2.5, 5.0, 7.5 et 10 % de fibres AOAC) a accru les pertes iléales de manière proportionnelle. Le flux d'acides aminés totaux estimé pour un ingéré nul en fibres est de 6.47 g/kg MS ingéré et chaque gramme de fibres AOAC ajouté par kg d'aliment augmente les pertes totales d'acides aminés endogènes de 0,04 g.

Ileal endogenous nitrogen losses in pigs. Effect of the chemical composition, the processing or the dietary level of pea grain inner fibres

The effect of the chemical composition, the grinding or the dietary level of the pea grain inner fibres on the ileal endogenous nitrogen losses in pigs was studied in three experiments. The intake of wrinkled pea inner fibres and starch slightly increased the ileal endogenous amino acid losses compared to smooth peas. The addition of micronized fibres (< 50 µm) in N-free diets significantly decreased the endogenous losses compared to untreated fibres. The water-holding capacity of the latter was higher than that of the micronized fibres (13 vs 4 g water/kg DM). The addition of increasing levels of fibres in diets (5, 10, 15, 20 % raw fibres, i.e. 2.5, 5.0, 7.5, 10 % AOAC fibres) proportionally increased the endogenous losses. The flow of total amino acids estimated for a diet free of fibres reached 6.47 g/kg DM intake and each gramme of AOAC fibre added per kg diet increased the total endogenous amino acid losses of 0.04 g.

INTRODUCTION

Les pertes iléales de matières azotées endogènes sont influencées par des facteurs alimentaires telles que les fibres ou les substances antinutritionnelles (JANSMAN et al, 1994; SCHULZE et al, 1994, 1995; LETERME et al, 1996a). Cette perte, qui est spécifique de l'aliment et constitue une dépense supplémentaire pour l'organisme, doit être distinguée de la perte non spécifique qui est inévitable pour l'animal et constitue une partie du besoin d'entretien (SÈVE, 1994). À l'heure actuelle, on ignore cependant si le niveau des pertes est proportionnel à la quantité du facteur alimentaire présent dans le régime, s'il est dépendant de la forme de présentation de l'aliment, s'il existe des interactions, etc.

La mesure des flux endogènes nécessite la distinction entre l'azote ou les acides aminés (AA) alimentaires et endogènes. Les techniques de dilution isotopique à l' ^{15}N s'avérant lourdes et coûteuses, les flux endogènes sont encore le plus souvent estimés de manière indirecte, à l'aide du régime protéoprive. Bien que l'absence de protéines réduit les sécrétions digestives et donc les pertes azotées endogènes, le recours à cette technique peut s'avérer utile pour étudier l'effet de certains constituants alimentaires comme les fibres, moyennant un ajout éventuel d'une protéine totalement digestible dans le régime.

Trois essais ont été menés pour étudier, de cette manière, l'effet de la composition chimique, de la forme de présentation et du taux d'incorporation des fibres isolées de cotylédons de la graine de pois sur les pertes iléales d'azote et d'AA endogènes chez le porc.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Douze porcs Large White mâles ont été munis d'une canule en T post-valvulaire après ablation du caecum (VAN LEEUWEN et al, 1991). Leur poids moyen au cours des essais successifs est respectivement de 45, 54 et 64 kg. Entre chaque essai, les animaux sont placés durant une semaine dans une loge plus spacieuse que les cages et reçoivent un aliment du commerce.

Les fibres isolées de pois sont fournies par la société Provital (7740 Warcoing, Belgique). En résumé, la coque est éliminée mécaniquement. Les cotylédons sont moulus et plongés dans une solution alcaline (pH = 8) pour solubiliser les protéines. Ces dernières sont écartées par ultrafiltration et l'amidon est décanté. Le produit restant, composé des fibres internes ($\pm 50\%$ de la MS) et d'amidon résiduel (42%), forme la fraction des 'fibres internes' utilisée ici.

Les régimes testés sont à base d'amidon de pois ou de maïs et de fibres internes de pois (tableau 1). Ceux du premier essai sont supplémentés par de la protéine de jaune d'oeuf, afin de vérifier si sa présence permet le maintien d'un niveau normal des sécrétions digestives, comme suggéré par ailleurs (LETERME et al, 1996b). Dans les deux essais suivants, les régimes sont protéoprives. Les aliments sont distri-

bués en soupe (aliment:eau, 1:1.5) et sont supplémentés par 3 g $\text{Cr}_2\text{O}_3/\text{kg MS}$.

Au cours de chaque essai, les animaux reçoivent quotidiennement, en deux repas (8 h - 16 h), 90 g MS/kg $\text{P}^{0,75}$ du régime. Chaque objet est testé sur 4 porcs et l'essai concernant le taux d'incorporation se fait en 2 périodes. Après 2 jours d'adaptation, les digesta iléaux sont collectés pendant 3 jours successifs de 9 h à 16 h 30, à l'aide de sachets en matière plastique fixés à la canule. Chaque jet de digesta est collecté, pesé et immédiatement congelé; l'ensemble de la collecte est cumulé.

Les digesta sont lyophilisés et analysés pour leur teneur en matière sèche, azote, chrome, acides aminés et les aliments pour leur teneur en azote, amidon, cellulose brute, fibres NDF, ADF, AOAC (PROSKY et al, 1988) et selon ENGLYST et CUMMINGS (1982). Toutes ces analyses ont été décrites par ailleurs (LETERME et al, 1996a).

2. RÉSULTATS

2.1. Composition chimique des fibres isolées

La teneur en amidon de la fraction fibreuse isolée est fonction du nombre de lavages effectués pour l'éliminer. Les isolats utilisés au cours du premier essai ont subi des lavages supplémentaires afin de les épuiser le plus possible en amidon. Il n'en restait que 10 % dans les fibres de pois ridés et 25 % dans celles de pois lisses. Malheureusement, le traitement des graines de pois ridés s'est soldé par le report de fibres dans l'amidon décanté (17 %); leur présence n'a pas été détectée avant l'essai. Les régimes ont été formulés sur base des teneurs en fibres des isolats, ce qui explique les différences importantes de teneurs en fibres (Englyst) obtenues pour les deux régimes testés lors du premier essai (tableau 1).

La teneur en fibres des produits étudiés est extrêmement variable d'une méthode de dosage à l'autre (tableau 1). Les teneurs en cellulose brute et en fibres NDF des graines de Légumineuses reflètent mal la teneur réelle en fibres (WOLTERS et al, 1992, LETERME et al, 1996a). Les méthodes AOAC et Englyst conviennent mieux, même si elles ne fournissent pas les mêmes valeurs. La méthode AOAC, gravimétrique, a tendance à surestimer les taux de fibres tandis que celle d'Englyst, chromatographique, les sous-estime (WOLTERS et al, 1992).

La capacité de rétention en eau des fibres est très élevée. Après traitement, la structure des cellules de la graine est peu affectée. En cas d'hydratation, les fibres se gorgent d'eau mais ce sont surtout les cavités des cellules qui se remplissent et retiennent l'eau. Elle est donc plus retenue de manière physique que par liaison chimique. La micronisation détruit la structure des cellules, empêchant une rétention physique. La quantité d'eau retenue par les fibres micronisées l'est donc par liaison chimique (Biot, communication personnelle).

Tableau 1 - Compositions centésimale et chimique des régimes testés

| Expérience | Pois lisses/ridés | | Fibres entières/ micronisées | | Taux d'incorporation (1) | | | |
|--|-------------------|----------|---------------------------------|-------|--------------------------|------|------|------|
| | P. lisses | P. ridés | Entière | Micro | 5 % | 10 % | 15 % | 20 % |
| Composition (g/kg MS) | | | | | | | | |
| Amidon (P. lisses) | 610 | - | - | - | - | - | - | - |
| Amidon (P. ridés) | - | 650 | - | - | - | - | - | - |
| Amidon de maïs | | | 660 | 660 | 740 | 710 | 680 | 650 |
| Fibres internes (P. lisses) | 190 | - | 190 | - | 50 | 100 | 150 | 200 |
| Fibres internes (P. ridés) | - | 150 | - | - | - | - | - | - |
| Fibres micronisées | - | - | - | 190 | - | - | - | - |
| Sucre | 60 | 60 | 60 | 60 | 120 | 100 | 80 | 60 |
| Jaune d'oeuf dégraissé (2) | 60 | 60 | - | - | - | - | - | - |
| Huile | 20 | 20 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| CMV | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| Analyse (g/kg MS) | | | | | | | | |
| Protéines brutes | 54 | 64 | 17 | 17 | 7 | 10 | 14 | 17 |
| Amidon | 605 | 460 | 676 | 685 | 687 | 681 | 676 | 670 |
| Cellulose brute | 21 | 41 (3) | 15 | 12 | 4 | 8 | 12 | 16 |
| NDF | 66 | 80 (3) | 42 | 31 | 13 | 27 | 40 | 54 |
| ADF | 22 | 46 (3) | 15 | 15 | 4 | 8 | 12 | 16 |
| AOAC total | 119 | 124 (3) | 93 | 85 | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Insoluble | 117 | 112 (3) | 87 | 73 | 23 | 22 | 21 | 20 |
| Soluble | 2 | 12 (3) | 6 | 12 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Englyst total | 96 | 208 | 73 | 72 | 19 | 38 | 56 | 75 |
| Insoluble | 84 | 167 | 54 | 56 | 14 | 28 | 43 | 57 |
| Soluble | 12 | 41 | 19 | 16 | 5 | 10 | 13 | 18 |
| Rétention en eau des fibres (g eau/kg MS) | 13,8 | 12,3 | 13,0 | 4,0 | 13,0 | 13,0 | 13,0 | 13,0 |

(1) taux de fibres brutes isolées, correspondant à 2.5, 5, 7.5 et 10 % de fibres AOAC

(2) contient environ deux tiers de protéines;

(3) ne prend pas en compte la présence de fibres dans l'amidon

2.2. Fibres de poids lisses/pois ridés

La différence de flux iléaux de matières azotées chez les porcs ingérant des fibres de pois lisses ou ridés (tableau 2) n'est pas proportionnelle à l'écart de teneur en fibres des régimes testés (tableau 1). Ceci provient probablement du fait que la fraction présente dans l'amidon n'a exercé qu'un effet limité sur les pertes endogènes. Les flux plus élevés que ceux mesurés lors des essais ultérieurs sont attribuables à la présence de protéines de jaune d'oeuf. Celles-ci ont été rajoutées afin de stimuler les sécrétions digestives et d'effectuer les mesures dans des conditions proches de celles rencontrées en alimentation protéique.

2.3. Fibres entières/micronisées

La micronisation des fibres (< 50 µm) a pratiquement réduit

les flux iléaux d'acides aminés endogènes de moitié (tableau 2). Cet effet est essentiellement lié à la destruction de la structure des cellules, elle-même responsable de la réduction de la capacité de rétention en eau (tableau 1).

2.4. Taux d'incorporation

L'effet du taux de fibres dans l'aliment sur le flux iléal d'AA endogènes est connu (SCHULZE et al, 1994, 1995; MARISCAL-LANDÍN et al, 1995). Les taux choisis ici correspondent à l'ingestion de 15, 30, 45 ou 60 % de pois entiers. La relation reliant le taux de fibres aux flux est linéaire pour tous les AA et l'azote total (tableau 3). Elle l'est également pour la matière sèche. Par contre, les flux quotidiens d'eau étaient inférieurs au litre pour les régimes à 5 et 10 % de fibres et supérieurs à deux litres pour les deux autres. Un effet exponentiel était attendu car, dans un

essai précédent (LETERME et al, 1996a), les flux iléaux d'AA totaux atteignaient 28 g/kg de MS ingéré chez des porcelets de 25 kg ingérant un régime qui contenait 32% de fibres internes (= 15.5 % de fibres AOAC). Les

porcelets sont plus sensibles à la présence de fibres dans les aliments, mais il est également possible qu'au-delà du taux maximal utilisé ici, la réponse des flux devienne plus que proportionnelle.

Tableau 2 - Flux iléaux d'acides aminés (g AA/kg MS ingéré) chez des porcs recevant un régime à base de fibres internes de pois

| Essai | Pois lisses/pois ridés | | Fibres entières/micronisées | |
|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------|
| | Pois lisses | Pois ridés | Fibres entières | Fibres micronisées |
| Arginine | 0,83 (0,1) | 1,00 (0,05) | 0,64x (0,12) | 0,36y (0,06) |
| Histidine | 0,59 (0,1) | 0,65 (0,03) | 0,33x (0,05) | 0,20y (0,01) |
| Isoleucine | 0,78 _a (0,09) | 0,96 _b (0,09) | 0,53x (0,05) | 0,39y (0,06) |
| Leucine | 1,04 _a (0,15) | 1,29 _b (0,12) | 0,70x (0,06) | 0,48y (0,11) |
| Lysine | 0,81 _a (0,12) | 1,14 _b (0,08) | 0,45x (0,05) | 0,33y (0,05) |
| Phénylalanine | 0,94 (0,21) | 1,06 (0,03) | 0,61x (0,08) | 0,41y (0,04) |
| Thréonine | 0,99 (0,17) | 1,15 (0,05) | 0,63x (0,04) | 0,40y (0,02) |
| Valine | 0,96 _a (0,10) | 1,14 _b (0,09) | 0,62x (0,05) | 0,38y (0,01) |
| Alanine | 0,89 _a (0,13) | 1,14 _b (0,10) | 0,59x (0,08) | 0,38y (0,01) |
| Ac. aspartique | 1,80 (0,40) | 2,23 (0,22) | 1,05x (0,24) | 0,71y (0,15) |
| Ac. glutamique | 1,65 _a (0,29) | 2,96 _b (0,34) | 1,00x (0,16) | 0,69y (0,08) |
| Glycine | 1,59 (0,39) | 1,86 (0,21) | 1,37x (0,33) | 0,54y (0,08) |
| Proline | 2,51 (0,99) | 2,38 (0,52) | 3,54x (1,17) | 1,32y (0,27) |
| Sérine | 1,66 (0,23) | 1,86 (0,05) | 0,72x (0,10) | 0,40y (0,03) |
| Tyrosine | 0,67 (0,08) | 0,74 (0,08) | 0,46x (0,04) | 0,28y (0,01) |
| Somme des acides aminés | 17,73 (3,00) | 21,56 (1,35) | 13,26x (2,61) | 7,27y (0,33) |

() : écart-type

a, b : P < 0.05; x, y : P < 0.01

Tableau 3 - Pente (b), ordonnée à l'origine (a) et paramètres de dispersion d'une relation reliant le taux de fibres AOAC d'un régime protéoprive et les pertes iléales d'azote et d'acides aminés endogènes chez le porc (g AA/kg MS ingéré)

| | a | b | r | s _{y,x} |
|--------------------------------|-------|-------|-------|------------------|
| Arginine | 0,308 | 0,019 | 0,956 | 0,016 |
| Histidine | 0,169 | 0,009 | 0,992 | 0,003 |
| Isoleucine | 0,272 | 0,022 | 0,999 | 0,003 |
| Leucine | 0,394 | 0,036 | 0,999 | 0,006 |
| Lysine | 0,221 | 0,033 | 0,970 | 0,023 |
| Phénylalanine | 0,319 | 0,023 | 0,993 | 0,008 |
| Thréonine | 0,341 | 0,023 | 0,960 | 0,019 |
| Valine | 0,282 | 0,033 | 0,972 | 0,022 |
| Alanine | 0,326 | 0,019 | 0,996 | 0,005 |
| Acide aspartique | 0,480 | 0,033 | 0,962 | 0,026 |
| Acide glutamique | 0,442 | 0,031 | 0,992 | 0,011 |
| Glycine | 0,528 | 0,051 | 0,993 | 0,016 |
| Proline | 1,742 | 0,032 | 0,976 | 0,02 |
| Sérine | 0,417 | 0,014 | 0,849 | 0,024 |
| Tyrosine | 0,235 | 0,018 | 0,997 | 0,005 |
| Somme des acides aminés | 6,473 | 0,395 | 0,997 | 0,092 |
| Azote | 1,62 | 0,048 | 0,996 | |

$Y = a + bX$ où Y est le flux d'acide aminé (en g AA/kg MS ingéré), X est le taux de fibres AOAC du régime (en % de la MS), a l'ordonnée à l'origine et b la pente de l'équation. r est le coefficient de régression et s_{y,x} l'écart-type résiduel

DISCUSSION

Le travail de recherche présenté ici s'inscrit dans une étude plus vaste visant à corriger les pertes iléales azotées endogènes générées par les aliments. Les pertes non spécifiques de l'aliment sont prises en compte dans les besoins d'entretien tandis que les pertes spécifiques sont très variables d'une matière première à l'autre et atteignent parfois des niveaux tels qu'il semble justifié de les compenser par un apport alimentaire supplémentaire en AA.

Avant de pouvoir appliquer ce concept en pratique, il faudra être en mesure de répondre à une série d'interrogations sur la constance des pertes non spécifiques, la corrélation pertes spécifiques/ niveau d'ingestion, la linéarité des relations, les interactions entre facteurs. Un début de réponse a été recherché pour trois cas de figure se présentant pour une source de fibres incorporée dans un régime protéoprive.

Dans le premier essai, nous avons voulu savoir si des variations de composition entre lots d'une même matière première pouvaient modifier les pertes endogènes de manière significative. A titre d'exemple, nous avons choisi de comparer les fractions de fibres et d'amidon du pois ridé à celles du pois lisse, le premier étant plus riche en fibres et en amylose.

Compte tenu de la différence de composition entre pois lisses et ridés et du fait que l'essai ait été entaché par une contamination de l'amidon des pois ridés par des fibres, nous pouvons estimer que les variations de composition ont peu modifié les flux iléaux endogènes. La différence entre les flux d'AA totaux est à la limite du niveau statistique significatif ($P = 0.058$).

D'autre part, la supplémentation du régime protéoprive par 40 g de protéine de jaune d'oeuf par kg, telle que suggérée précédemment (LETERME et al, 1996b), suffit à stimuler les sécrétions digestives et augmenter les pertes iléales endogènes par rapport à un régime protéoprive seul (tableau 2). La présence de protéines très hautement digestibles permet de corriger le caractère antiphysiologique de ce régime tout en assurant une mesure directe des pertes iléales endogènes. Il reste cependant à vérifier que la protéine choisie est totalement digérée en présence de fibres de pois, que son profil en AA répond aux besoins du porc et que le taux d'incorporation est suffisant pour assurer un niveau normal de sécrétions. Le niveau élevé des flux de proline, typique de l'état protéoprive, semblerait indiquer qu'il ne l'est pas.

La micronisation a été choisie comme exemple de traitement technologique. Son effet sur les flux endogènes est spectaculaire (tableau 2). Les pertes sont corrélées positivement à la capacité de rétention en eau des fibres ingérées (DECUYPERE et al, 1994). Une capacité élevée augmente la vitesse de propagation du bol alimentaire dans l'intestin grêle, ce qui réduit le temps de rétention des digesta (CHERBUT et al, 1994) avec une diminution possible de la réabsorption des matières endogènes. Certaines fibres

accroissent le taux de prolifération des cellules épithéliales et la desquamation des cellules (JIN et al, 1994), le nombre de cellules en gobelet et donc la production de mucus (SCHNEEMAN et al, 1982). Le gonflement des fibres a probablement aussi entraîné les sécrétions digestives et empêché leur réabsorption. La micronisation des fibres a entraîné la destruction de l'architecture de la paroi des cellules et atténué tous ces phénomènes. Il faudra vérifier si certains traitements technologiques n'entraînent pas de pareilles modifications.

Le troisième essai avait pour objectif d'évaluer l'effet du taux d'incorporation des fibres sur les pertes iléales endogènes. La relation obtenue ici permet de distinguer l'effet spécifique des constituants alimentaires de l'effet non spécifique. Les pertes non spécifiques correspondent à l'ordonnée à l'origine (a). La valeur est nettement inférieure à celle obtenue par SCHULZE et al (1994, 1995) pour des fibres de son de froment purifiées chez des porcelets de 20 kg: 2.28 g N/kg MS ingéré. Cette différence confirmerait l'influence du poids de l'animal sur la réponse des pertes aux facteurs alimentaires et pose le problème de la détermination de la fraction non spécifique, sensée être constante d'une matière première à l'autre. On peut aussi s'interroger sur le choix de la variable: est-il préférable de prendre en considération un niveau d'incorporation d'une matière première dans l'aliment ou celui de son facteur alimentaire. Dans ce cas, le choix de la méthode de dosage est important. Nous avons, par exemple, montré que le taux de fibres AOAC des isolats de pois était mieux corrélé aux pertes endogènes que le taux NDF (LETERME et al, 1996a). Enfin, il est préférable de se limiter à des plages de teneur en facteur alimentaire où la relation avec les flux endogènes est de type linéaire. Ces plages correspondent à des taux rencontrés en pratique (SCHULZE et al, 1995) alors que des relations de type exponentiel expriment souvent des taux hors-normes (JANSMAN et al, 1994) que les praticiens n'utiliseront jamais.

CONCLUSION

Le développement d'un système de correction des pertes endogènes spécifiques des aliments requiert au préalable une étude approfondie sur la relation qui les relie, sur la manière de la mesurer et de l'intégrer dans un système utilisable en pratique. En ce qui concerne l'effet des fibres, nous savions déjà que le choix des méthodes d'analyses était primordial (LETERME et al, 1996a). Les essais présentés ici ont permis de relativiser la variation de composition chimique des fractions hydrocarbonées d'une matière première mais ont mis en évidence l'importance de la forme de présentation et du taux d'incorporation dans les régimes.

REMERCIEMENTS

Les travaux ont été financés par l'Institut pour l'encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (IRSIA), Bruxelles (contrat n° 5586A).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CHERBUT C., BRULEY DES VARANNES S., SCHNEE M., RIVAL M., BAMICHE J., DELORT-LAVAL J. 1994. *Br. J. Nutr.* 71, 675-685.
- DECUYPERE J., SPRIET S., VAN GILS L. 1994. In: *Proc. Vllth Int. Symp. on Digestive Physiology in Pigs*, eds Souffrant W. & Hagemester H., EAAP Publ 80, pp 125-128.
- ENGLYST H., CUMMINGS J. 1988. *J. AOAC* 71, 808-814.
- JANSMAN A., SCHULZE H., VAN LEEUWEN P., VERSTEGEN M., 1994a. In: W.B. Souffrant, H. Hagemester (Eds) *Proc. Vllth Int. Symp. on Digestive Physiology in Pigs*, vol. I., Bad Doberan (D), EAAP Publ. 80, 322-324
- JIN L., REYNOLDS L., REDMER D., CATON J., CRENSHAW J. 1994. *J. Anim. Sci.* 72, 2270-2278.
- LETERME P., MONMART T., MORANDI P., THEWIS A., 1996b. *J. Sci. Food Agric.* (sous presse).
- LETERME P., VAN LEEUWEN P., THEWIS A., HUISMAN J., 1996a. *J. Sci. Food Agric.* (sous presse).
- MARISCAL-LANDIN G., SÈVE B., COLLEAUX Y., LEBRETON Y. 1995. *J. Nutr.* 125 136-146.
- PROSKY L., ASP N., SCHWEIZER T., DE VRIES J., FURDA I., 1988. *J. AOAC* 71, 1017-1023.
- SCHNEEMAN B., RICHTER D., JACOBS L. 1982. *J. Nutr.* 112, 283-290.
- SCHULZE H., VAN LEEUWEN P., VERSTEGEN M., VAN DEN BERG J. 1995. *J. Anim. Sci.*, 73, 441-448.
- SCHULZE H., VAN LEEUWEN P., VERSTEGEN M., HUISMAN J., SOUFFRANT W., AHRENS F., 1994. *J. Anim. Sci.* 72, 2362-2368.
- SÈVE B., 1994. *INRA Prod. Anim.* 7, 275-292
- VAN LEEUWEN P., VAN KLEEF D., VAN KEMPEN G., HUISMAN J., VERSTEGEN M., 1991. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 65, 183-193
- WOLTERS G., VERBEEK C., VAN WESTEROP J., HERMUS R., VORAGEN A. 1992. *J. AOAC* 75, 626-634.