



HAL
open science

Évaluation de l'effet du site de récolte et de modalités de séchage, sur la composition en tannins condensés de 4 ressources végétales

Liza Dahome

► **To cite this version:**

Liza Dahome. Évaluation de l'effet du site de récolte et de modalités de séchage, sur la composition en tannins condensés de 4 ressources végétales. Chimie. 2014. hal-02961733

HAL Id: hal-02961733

<https://hal.inrae.fr/hal-02961733>

Submitted on 8 Oct 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DES ANTILLES ET DE LA GUYANE
FACULTÉ DE SCIENCES EXACTES ET NATURELLES



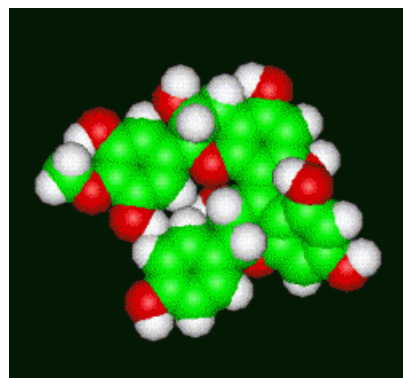
MASTER EN SCIENCES DE LA MATIÈRE

Mention : CHIMIE

Spécialité : Valorisation de la Flore Tropicale

Evaluation de l'effet du site de récolte et du séchage sur la composition en tanins condensés de 4 ressources végétales

Liza DAHOMÉ



Tuteur de stage (INRA) : Harry ARCHIMÈDE
Encadrement (INRA) : Carine MARIE-MAGDELEINE
Tuteur de stage (UAG) : Ketty BILBA

Unité de Recherche Zootechnique de l'INRA
Domaine de Duclos Petit-Bourg
Mémoire soutenu le : 30 juin 2014

Résumé

L'Unité de Recherche Zootechnique de l'INRA souhaite développer des granulés anthelminthiques à partir d'espèces végétales contenant des tanins condensés afin de combattre le parasitisme gastro-intestinal chez le bétail. Dans cette optique, nous souhaitons étudier les facteurs impactant la teneur en tanins condensés de certaines espèces végétales.

Des études préliminaires indiquent une variation du taux de tanins condensés au cours du cycle de vie des végétaux. De plus, divers facteurs liés au site de récolte, comme la composition chimique et le taux d'humidité du sol, ou encore les conditions atmosphériques, impactent le pourcentage en tanins condensés. Enfin, le mode de séchage appliqué à l'espèce végétale influencerait également les quantités.

L'étude réalisée porte sur 4 ressources végétales, récoltées sur des zones différentes. Elles sont séchées par lyophilisation, en étuve ou au soleil. Le taux de tanins condensés est déterminé par un test de réaction à la vanilline en milieu acide.

Les teneurs en TC les plus élevées sont rencontrées pour le pois d'angole et le leucaena. La zone de récolte ne semble pas avoir d'effet marquant sur la teneur en tanins condensés, mais une interaction ressources/site de récolte est observée. Le séchage par lyophilisation permet de conserver les teneurs en tanins condensés les plus élevées. Le séchage au soleil présente des résultats très variables.

Nos travaux ont montré une large variabilité dans les teneurs en TC en fonction de la ressource, la zone de récolte et les méthodes de séchage.

Abstract

To combat pet's gastro-intestinal parasitism, URZ is trying to develop anthelmintic herbal granules. So, we wanted to study factors influencing condensed tannins content of plant species.

Preliminary studies indicate a change in the condensed tannins content during the plant life cycle. In addition, various factors related to the harvest site, such as chemical composition and soil moisture content or weather conditions, impact condensed tannins content. Finally, drying also influence the quantities.

We studied 4 plant species, picked on various areas. They are freeze-dried, sundried or ovened. The condensed tannins content is determined by Vanillin-acid assay.

The highest condensed tannins content met for pigeon peas and leucaena.

Harvest area does not seem to have any effect on condensed tannins content, but an interaction resource/harvesting site is observed. Freeze-drying preserves the highest condensed tannins content. Sun drying has very variable results.

This study shows a wide variability in the condensed tannins content as a function of resource, harvest area and drying methods.

Remerciements

J'adresse mes plus sincères remerciements,

à ma mère, Patricia ZAMIA, pour son indéfectible soutien, d'hier, d'aujourd'hui et de demain.

à ma tante, Quetto pour m'avoir encouragée dans le choix d'entreprendre ce Master.

à mes sœurs Eugénie, Marie et Lyana qui sont à mes côtés dans la vie et me permettent d'avancer dans les projets que j'entreprends.

à mon tuteur, Ketty Bilba et mon responsable de Master, Marie-Ange Arsène, pour m'avoir fait confiance et soutenue durant les périodes difficiles de mon stage.

à mon tuteur, Harry Archimède, pour m'avoir généreusement accueillie au sein de l'URZ et m'avoir proposé ce sujet correspondant idéalement à mes attentes.

à Carine Marie-Magdeleine qui m'a accueillie et encadrée sur ce projet. Elle a fait preuve de compréhension et de douceur.

à Steve Ceriac, qui m'a initiée avec patience au dosage des tanins condensés.

à Lucien Phillibert, qui m'a coachée durant mes manipulations et l'analyse de mes résultats.

au personnel, aux thésards et stagiaires de l'URZ (Yohan, Suzitte, Tatiana, Lucina, Lubert, Jean-Christophe, Jean-Luc, Amandine, Anthony, Loic, Maeline, Jessy, William, Roselyne...) qui m'ont accueillie avec beaucoup de sympathie et de chaleur.

*Ce travail a été partiellement financé par : La Région
Guadeloupe, le fond Européen (FEDER FEOGA) et le Parc
Naturel de la Martinique (indemnité étudiant)*

*MOTS CLES : ressources locales, autonomie alimentaire, passage de la saison sèche, alimentation azotée, savane naturelle,
production ovine, viande sous label, valorisation patrimoniale, territoire*



Sommaire

Résumé	1
Abstract	2
Remerciements	3
Sommaire	6
Liste des Abréviations	7
I. Introduction	8
A. Contexte	8
B. Etude bibliographique	9
1. Tanins / Tanins condensés	9
2. Facteurs influençant la composition en tanins condensés de ressources végétales	10
II. Matériels et Méthodes	13
A. Matériel végétal utilisé	13
1. Nature et quantité.....	13
2. Traitements physiques	14
B. Dosage des tanins condensés	14
1. Purification des tanins condensés.....	14
2. Principe du dosage	15
3. Réalisation.....	17
4. Analyse statistique.....	19
III. Résultats	20
A. Espèce Végétale	20
B. Effet de la zone de récolte	21
C. Effet du mode de séchage	22
IV. Discussions	24
A. Considérations générales	24
B. Variabilité des teneurs de TC des ressources	24
C. Effet des sites sur la variabilité des teneurs de TC des ressources	25
D. Effet du traitement thermique sur la variabilité des teneurs de TC des ressources	25
V. Conclusions	26
VI. Références Bibliographiques	27
Liste des illustrations	29

Liste des Abréviations

ADF : Acid detergent fiber

ADL : Acid detergent lignine

BT : Basse-Terre

HPLC : high performance liquid chromatography (Chromatographie en phase liquide)

GI : Gastro-Intestinal

GT : Grande Terre

KM : K-Manioc

LE : Leucaena

Lyo : Lyophilisation

MA : Manioc amère

MAT : Matière azotée totale

MO : Matière Organique

NDF : Neutral detergent fiber

PA : Pois d'angole

SE : Standard error

TC : Tanins Condensés

URZ : Unité de Recherche Zootechnique

I. Introduction

A. Contexte

Le parasitisme gastro-intestinal affecte la santé animale et a un impact négatif sur la productivité globale des troupeaux. La chimioprophylaxie a été le principal moyen de lutte contre ce problème. Cependant, depuis quelques années, on observe une résistance des strongles aux anthelminthiques de synthèse. Les limites de la lutte chimique ont conduit la recherche à s'interroger sur des solutions alternatives pour lutter contre le parasitisme GI des ruminants (Marie-Magdeleine, C., 2009).

Un des axes de recherche est l'élimination de la population vermineuse installée dans l'animal : c'est le cas de l'utilisation raisonnée de la phytothérapie. Les ressources végétales bioactives contiennent des substances actives contre certains pathogènes.

Ainsi, l'Unité de Recherche Zootechnique (URZ) de l'INRA de Duclos (Petit-Bourg) souhaite mettre au point des granulés ayant des activités anthelminthiques à partir de ressources végétales contenant des tanins condensés (TC).

Après avoir définies les caractéristiques des ressources éligibles il est nécessaire d'analyser les éventuelles variations de la teneur en TC contenu dans les ressources. Ces variations pourraient être induites par la réponse de la plante à des stress extérieurs (sécheresse, attaque d'animaux), à sa physiologie (floraison....) et au procédé de fabrication des granulés (Séchage,...).

L'objectif de ce travail de Master est d'évaluer l'effet des différents facteurs : site de récolte, méthode de séchage, sur la composition en tanins condensés de ressources végétales.

B. Etude bibliographique

1. Tanins / Tanins condensés

Les tanins sont des molécules organiques non azotées fabriquées par les voies métaboliques secondaires des végétaux. Ce sont des composés solubles dans l'eau, qui n'assurent pas strictement la survie du végétal mais qui constituent un moyen de lutte efficace dans les interactions plante-plante telles que les relations allélopathiques, d'inhibition de la germination et de la croissance et contre les agressions des prédateurs tels les insectes et les mammifères herbivores (Brunet, S., 2008).

Les tanins appartiennent au groupe des phénols et sont distingués en deux catégories selon leur structure biochimique :

- les tanins hydrolysables
- les tanins condensés (TC) ou proanthocyanidols

Les tanins condensés sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols, sous-groupe des flavonoïdes. Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structure de base : deux cycles aromatiques reliés par trois carbones C6-C3-C6, chaîne souvent fermée en un hétérocycle oxygéné hexa- ou pentagonal (Figure 1).

Les tanins condensés sont ainsi constitués d'unités de flavan-3-ols, liées entre elles par des liaisons carbone-carbone, simples (type B) ou multiples (type A), de type 4→8 ou 4→6 (Figure 1).

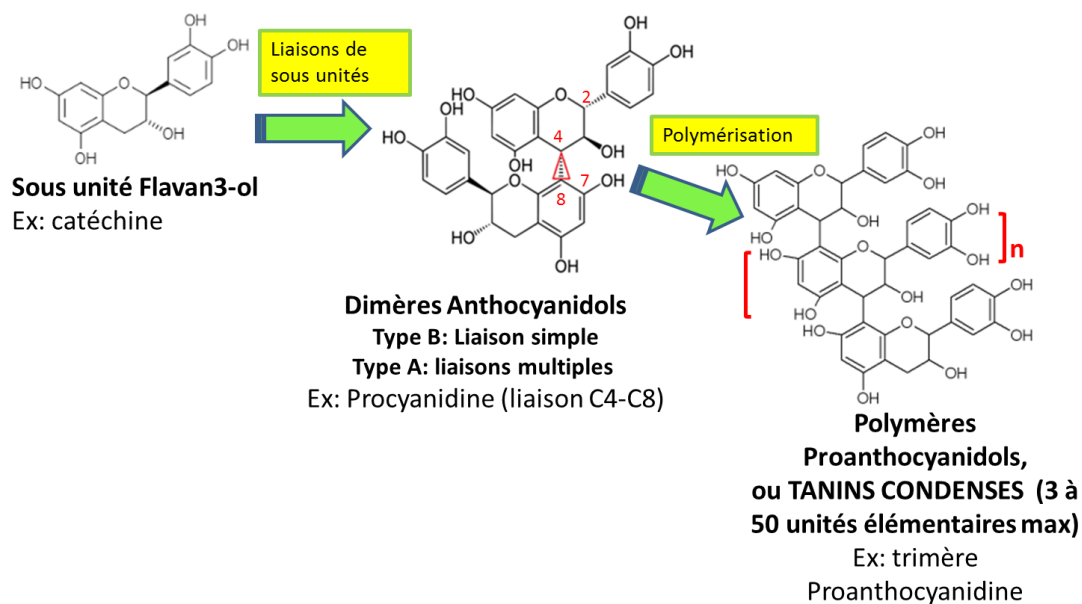


Figure 1 : Structure chimique des tanins condensés

2. Facteurs influençant la composition en tanins condensés de ressources végétales

a) Evolution du taux de TC au sein d'une espèce végétale

La concentration en TC au sein des espèces végétales varie en fonction du cycle de vie de la plante. Durant la phase de croissance, le taux de TC augmente, de façon plus ou moins importante, en fonction de facteurs divers. A partir d'un certain stade, l'espèce végétale amorce une phase de vieillissement et/ou de décomposition et la concentration en TC diminue durant cette période (Acero A. & al., 2010 ; Cohen S. D. & al., 2012 ; Zhou H.-C., & al., 2012).

La concentration en TC peut également évoluer à d'autres moments spécifiques. On peut observer une fluctuation durant le stockage. Après récolte et il y aurait complexation et/ou polymérisation des composés au cours du temps (Ferreira, E. C. & Al., 2004).

b) Effet du site de récolte

Plusieurs facteurs liés au site de récolte peuvent être observés (Teixeira A. & al., 2013). La composition du sol en terme de nutriments et d'humidité ainsi que les conditions atmosphériques présentent des variables à étudier.

Ainsi, des études ont été menées sur certains de ces facteurs et il en ressort que la provenance du matériel végétal a un effet majeur sur sa composition en TC.

La présence plus ou moins importante de certains composés chimiques dans le sol influence la concentration en composés phénoliques des espèces végétales. En effet, une carence en soufre se traduit par une baisse importante des phénols totaux (Brzozowska, J. & Al., 1973) et une présence d'ions aluminium, Al^{3+} , augmente de façon significative la concentration en TC chez certaines espèces (Malmir, H. A., 2012)

L'humidité est un autre facteur affectant la composition en TC. Un déficit d'irrigation favorise l'accumulation des anthocyanine (Fernandes de Olivera A. & al., 2013). Ainsi, la concentration en TC est plus élevée lorsque la saison des pluies est courte et/ou durant la saison sèche (Assefa, G. & Al., 2008).

Le taux de TC est également impacté par la température atmosphérique durant la phase de croissance de l'espèce végétale, la température influençant le métabolisme de composés phénoliques (Cohen S. D. & Al., 2008). L'augmentation de la température augmente la concentration en TC (Cohen S. D. & Al., 2012). Cependant une température trop élevée détériorerait les composés, ce qui diminuerait leur concentration.

c) Effet du séchage

L'impact de différentes méthodes de séchage a été étudié.

Selon Abascal, K. & Al. (2005), la lyophilisation ne préserverait pas parfaitement les composés phénoliques et pourrait diminuer l'action de certains composés. Cependant, il a été démontré que l'augmentation de la température est moins impactant lors d'un séchage anaérobique comparativement aux méthodes aérobiques (Palmer, B. & Al., 2000). En effet, le séchage à l'air favorise la complexation des TC avec des protéines (Stewart, L. & Al., 2000).

La lyophilisation apparaît comme étant la méthode de séchage permettant d'avoir la meilleure conservation des TC. Cependant, sur une durée trop importante, elle réduit le taux de TC (Stewart, L. & Al., 2000).

II. Matériels et Méthodes

A. Matériel végétal utilisé

1. Nature et quantité

Quatre matières premières connues (bibliographie, dosages antérieurs) pour des teneurs moyennes à élevées en TC ont été retenues : Feuilles de Manioc amère, Feuilles de K-Manioc, Feuilles de Leucaena, Feuilles de Pois de d'angole.

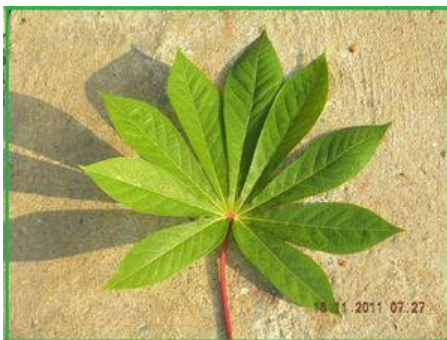


Figure 2 : Feuille de manioc



Figure 3: Feuilles de leucaena



Figure 4: Feuilles de pois d'angole

La composition chimique moyenne des ressources est résumée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : Composition chimique moyenne des espèces KManioc, Leucaena et pois d'angole

	KManioc		Leucaena		Pois d'Angole	
	moyenne	SE	moyenne	SE	moyenne	SE
MO (%MS)	89,8	0,43	90,9	0,23	93,8	0,16
MAT (%MS)	21,3	0,88	20,2	0,32	35,3	0,33
NDF (%MS)	42,4	0,97	31,7	4,49	49,1	0,34
ADF (%MS)	21,3	0,88	20,2	0,32	35,3	0,32
ADL (%MS)	9,0	0,56	9,3	0,26	19,7	0,33

Quinze kilogrammes de produit frais ont été collectés pour chacune des matières premières. Les ressources ont été récoltées sur 2 zones, à raison de 3 échantillons par zone (les 3 échantillons seront prélevés sur des sites représentatifs de la zone), soit 24 échantillons.

La zone 1 est la zone Basse-Terre, BT, considérée comme zone humide à saison sèche peu marquée, avec un sol Ferrallitique.

La zone 2 est la zone Grande-Terre, GT, considérée comme zone humide à saison sèche marquée, avec un sol Vertisol.

2. Traitements physiques

Les 15 kg d'échantillons frais ont d'abord été mélangés puis divisés en 3 sous échantillons de 5 kg. Un sous-échantillon de 5 kg a été lyophilisé, il a été utilisé pour la purification et la quantification des TC. Un autre a été séché à basse température (air libre sous une serre). Le troisième sous-échantillon a été séché à l'étuve ventilée, à la température de 45°C.

Chaque sous-échantillon est subdivisé en 3 aliquotes pour les dosages de TC.

B. Dosage des tanins condensés

1. Purification des tanins condensés

Les tanins condensés de chacune des plantes sont dosés en prenant pour standard (gamme) le tanin condensé (TC) de la plante. Préalablement au dosage, une purification des tanins condensés est donc réalisée.

La purification des TC est réalisée selon une méthode modifiée de Terrill et al. (1992). Une première extraction solide-liquide va permettre de récupérer la fraction contenant les tanins condensés. Cette extraction se fait de manière automatisée à l'aide de L'automate Accelerated solvent extractor Dionex®. L'échantillon est préparé en mélangeant 25 g de la plante lyophilisée broyée, à 5 g de terre diatomée et extrait par le système de solvant : eau distillée 30%-acétone 70% - acide ascorbique 1%. Les extraits acétoniques obtenus sont dépigmentés avec le même volume d'éther diéthylique. La phase aqueuse est évaporée au concentrateur Mivac®, puis l'extrait

aqueux est lyophilisé. L'extrait sec obtenu est repris dans 150 mL d'un mélange eau-Méthanol (50/50, v/v) et élué sur 9 g de Sephadex LH20 avec 100 ml de solution acétone 70%. L'éluant acétonique est évaporé à l'évaporateur rotatif et l'extrait aqueux de tanins condensés purifiés est lyophilisé.

2. Principe du dosage

Le dosage se fait en deux étapes :

- Isolation des tanins afin d'obtenir un extrait de tanins aqueux
- Dosage de l'extrait par réaction avec la vanilline

Le principe du test est le suivant (Figure 5., Nakamura Y. et al, 2003 ; Makkar H.P.S. & al., 1993) : La vanilline est protonée en milieu acide, ce qui conduit à un carbocation ayant une déficience électronique. Ce carbocation réagit en position 6 ou 8 du cycle A du flavonoïde (Tanin condensé). Le composé intermédiaire obtenu est déshydraté afin d'obtenir un composé de couleur rouge.

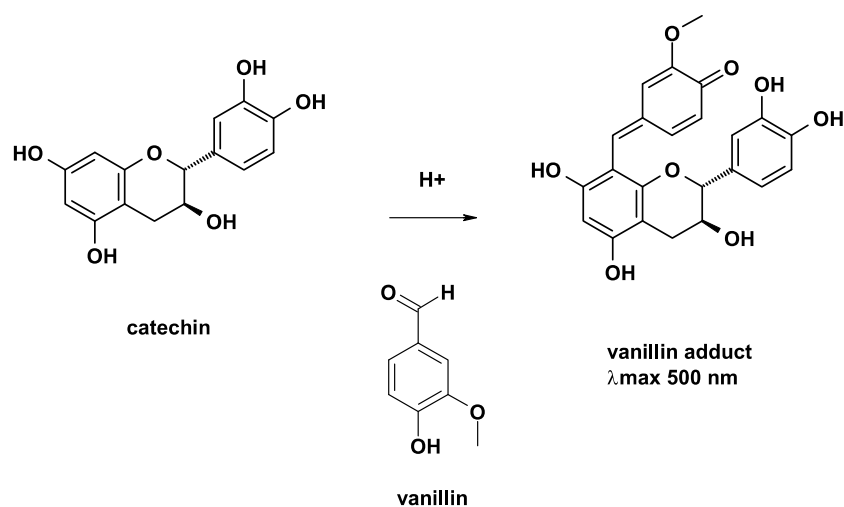


Figure 5 : Réaction d'une unité de catéchine avec la vanilline

La solution colorée obtenue est alors analysée au spectrophotomètre, à une longueur d'onde de 500nm, pour en mesurer l'absorbance et en déduire la concentration en tanins condensés de l'échantillon.

L'absorption du rayonnement UV-VIS par les molécules permet de mesurer le nombre (ou plutôt la concentration) de ces molécules présentes dans le trajet du rayonnement. On ne mesure pas directement ce nombre, mais on procède à un étalonnage en utilisant des mélanges étalons de concentrations connues des molécules que l'on veut doser. Ces étalons sont placés dans des cellules d'absorption traversées par le rayonnement UV-VIS. La quantité de rayonnement absorbée dans les zones d'absorption spécifiques des molécules à doser est déterminée par le spectrophotomètre. À une longueur d'onde où la molécule absorbe, il existe une loi simple entre quantité de rayonnement transmis par le milieu et concentration des molécules qui absorbent (on suppose que seule l'espèce à doser absorbe à cette longueur d'onde). C'est la loi de Beer-Lambert qui relie absorption, à une longueur d'onde λ , et concentration c des molécules qui absorbent. Si l'intensité du rayonnement à la longueur d'onde λ , avant traversée de la cellule, est I_λ^0 , l'intensité après traversée de la cellule, sera I_λ , reliée à I_λ^0 par la relation :

$$I_\lambda = I_\lambda^0 e^{-\varepsilon_\lambda l c} \text{ ou encore } A_\lambda = \ln\left(\frac{I_\lambda^0}{I_\lambda}\right) = \varepsilon_\lambda l c$$

avec :

A_λ : Absorbance du milieu à la longueur d'onde λ , exprimée en nm dans l'UV-VIS

ε_λ : Coefficient spécifique d'absorbance molaire en $\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

l : Trajet optique de la cellule en cm

c : concentration en mol.l^{-1} des molécules qui absorbent à la longueur d'onde λ

3. Réalisation

a) Préparation de l'extrait de tanins aqueux

L'extraction est réalisée par une solution d'acide ascorbique 1g.l^{-1} dans un mélange acétone/ H_2O 70%/30%.

À 100 mg de matériel végétal on ajoute 4 ml de solution d'extraction et on agite 5 min. On récupère la solution en la filtrant sur coton. L'opération est effectuée à quatre reprises pour la même fraction de matériel végétal. Au filtrat recueilli, on ajoute 7 ml de d'éther di-éthylique pour dépigmentation. On agite, laisse décanter, puis on récupère la phase aqueuse (phase inférieure). On élimine les traces de solvant au concentrateur miVac (30 min à 30°C). On obtient alors un extrait aqueux de tanins.



Figure 6 : Concentrateur miVac

b) Dosage

Les préparations de dosage sont réalisées dans des tubes à essai plongés dans un bain de glace, à $T < 10^{\circ}\text{C}$. Les tubes sont ensuite laissés à température ambiante pendant 20 min.

Tableau 2 : Composition des préparations à mesurer au spectrophotomètre

	0,05 ml	1 ml	2 ml
Echantillon	Extrait aqueux tanins	H ₂ O	Vanilline 1%
Gamme G	Gamme	H ₂ O	Vanilline 1%
Blanc Echantillon BF	Extrait aqueux tanins	H ₂ O	H ₂ SO ₄ 70%
Blanc Gamme BG	Gamme	H ₂ O	H ₂ SO ₄ 70%
Blanc Vanilline BV	H ₂ O	H ₂ O	Vanilline 1%
Blanc acide (H₂SO₄) BA	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ SO ₄ 70%

Vanilline 1% : x g vanilline dans 0,x L d'acide (H₂SO₄) à 70 %.

Gamme : il s'agit d'une gamme d'étalonnage. On prépare une solution mère TC de 1mg.ml⁻¹ dans la solution d'extraction (acide ascorbique dans acétone/H₂O). A partir de cette solution mère on réalise 6 dilutions successives dans l'eau pour obtenir les points de gamme suivant :

G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
1mg.ml ⁻¹	0,5mg.ml ⁻¹	0,25mg.ml ⁻¹	0,125mg.ml ⁻¹	0,063mg.ml ⁻¹	0,031mg.ml ⁻¹	0,016mg.ml ⁻¹

Chaque extrait de tanins est fait en triple.

Plusieurs BV sont réalisés (minimum 3)

Afin de normaliser les expériences, les résultats obtenus sont exprimés en fonction du pourcentage de matière sèche (MS) des végétaux étudiés. Les concentrations sont exprimées en g.100g⁻¹ de feuilles rapportées à la matière sèche. La concentration en tanins condensés est calculée comme suit :

$$\frac{(Abs - BF - BV - b) \times Volume_d'extraction}{MS \times a \times masse_échantillon \times Volume_de_prise}$$

Avec :

Abs : Absorbance moyenne mesurée pour l'échantillon

BF : Absorbance BF

BV : Absorbance BV

a et *b* : Constantes déterminées à partir de la gamme

MS : pourcentage de matière sèche de l'échantillon

Le pourcentage de matière sèche (MS) des matières premières est déterminé par séchage à l'étuve (103°C, 24h), jusqu'à poids constant.

4. Analyse statistique

Les données ont été analysées avec la procédure d'analyse de variance (Modèle Linéaire Général) de MINITAB 16. Le modèle d'analyse de variance était :

[TC] = Espèce végétal (4 modalités) + Site (2 modalités) Espèce* Sol + [MAT ressource] + [NDF ressource].

Les concentrations de NDF et MAT ont été prises comme covariable.

Les différences ont été déclarées significatives au seuil P<0.05.

Les effets site et espèce végétale ont été testés sur les échantillons lyophilisés.

III. Résultats

Une forte variation des teneurs de TC est observée en fonction des espèces végétales, des zones de cueillette et les modalités de séchage.

A. Espèce Végétale

Cet effet a été étudié sur les échantillons lyophilisés. Les teneurs en TC ont fortement varié en fonction des espèces végétales (tableau 3 et figure7). Elles ont été significativement plus élevées ($P < 0.05$) avec le pois d'angole et le leucaena comparativement au kmanioc et le manioc dit amer. Il n'y avait pas de différences significatives ($P > 0.05$) entre le kmanioc et le manioc dit amer d'une part et le pois d'angole et leucaena d'autre part.

Variabilité de la teneur en tanins condensés des feuilles de Manioc, Leucaena et Pois d'angole en fonction du site de récolte: Grande terre (GT) et Basse Terre (BT)

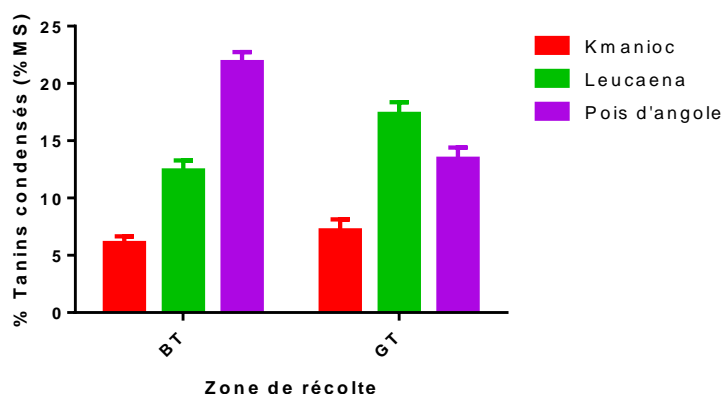


Figure 7 : Variabilité de la teneur TC des feuilles de manioc, leucaena et pois d'angole en fonction du site de récolte : Grande-Terre (GT) et Basse-Terre (BT)

Tableau 3 : Teneur en Tanins condensés des 4 espèces végétales

	Moyenne (g/100g)	SE
Leucaena	16,8	1,17
Pois d'angole	18,2	0,72
Manioc amer	5,8	1,04
K Manioc	5,7	0,8

B. Effet de la zone de récolte

Cet effet a été étudié sur les échantillons lyophilisés. Aucun effet significatif de la zone de récolte n'a été observé sur la teneur en TC des ressources végétales (tableau 4 et figure 8). Une interaction significative ($P < 0.05$) entre ressources et site de récolte a été mise en évidence. Les teneurs en TC du leucaena étaient significativement plus élevées ($P < 0.05$) en Grande Terre qu'en Basse Terre alors que la hiérarchie a été significativement différente pour le pois d'angole. Bien que les différences n'étaient pas significatives les teneurs en TC ont été plus élevées avec en Basse Terre que en Grande Terre avec les maniocs.

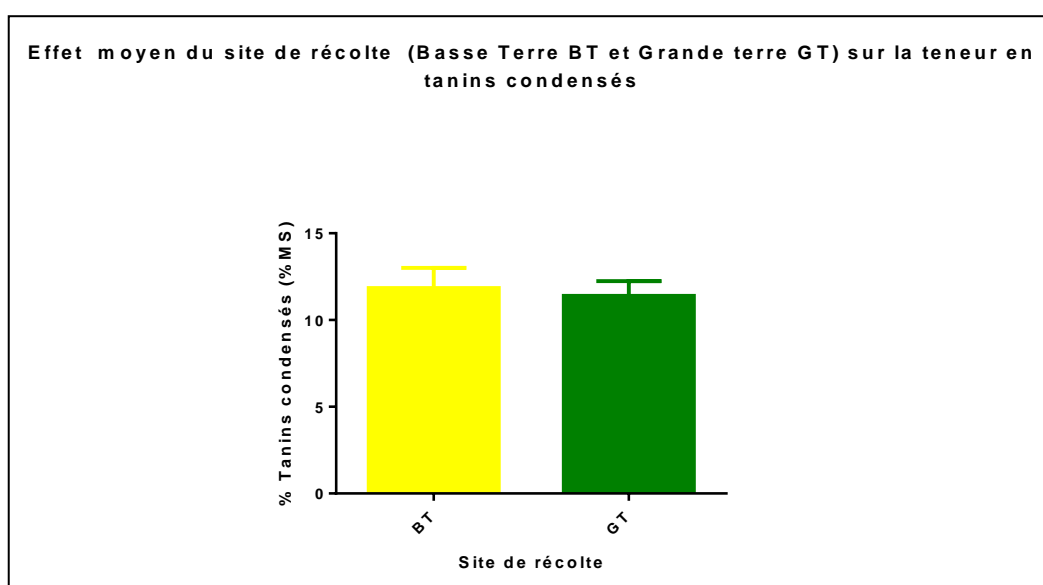


Figure 8 : Effet moyen du site de récolte (BT et GT) sur la teneur en TC

Tableau 4 : Teneur en TC des 4 espèces végétales sur les 2 sites de récolte

Ressources	Sol	Moyenne g/100g MS	SE
Leucaena	Ferrallitique	13,2	1,02
Leucaena	Vertisol	20,3	1,78
Pois d'Angole	Ferrallitique	22,2	0,95
Pois d'Angole	Vertisol	14,2	1,02
Manioc Amer	Ferrallitique	6,4	0,99
Manioc Amer	Vertisol	5,1	1,58
K Manioc	Ferrallitique	6,3	0,95
K Manioc	Vertisol	5,2	1,38

C. Effet du mode de séchage

Le mode de séchage a un effet significatif sur la teneur en TC des ressources (Tableau 5, figure 9). Les ressources séchées par lyophilisation (Témoin) ont des teneurs en TC significativement plus élevées ($P < 0.05$) que celles séchées à l'étuve et au soleil. Bien que significatives, les différences ont été faibles entre la lyophilisation et le séchage au soleil. Les ressources séchées à l'étuve ont eu les teneurs en TC significativement plus faibles ($P > 0.05$) que les deux autres traitements. L'effet du séchage au soleil ne semble pas homogène en fonction de la ressource contrairement au séchage à l'étuve. Relativement à la lyophilisation, la réduction de la teneur de TC d'environ 20% pour le pois d'angole et le leucaena séchés au soleil contre plus de 30% pour les maniocs.

Tableau 5 : Teneur en TC des 4 espèces végétales pour 3 modes de séchage (Lyophilisation, Etuve à 45°C et Soleil)

		Moyenne g/100g MS	SE
Leucaena	Lyophilisé	14,9	0,761
Leucaena	Soleil	13	0,761
Leucaena	Etuve 45°C	5,3	0,761
Pois d'Angole	Lyophilisé	17,6	0,761
Pois d'Angole	Soleil	15,6	0,761
Pois d'Angole	Etuve 45°C	5,5	0,761
Manioc Amer	Lyophilisé	7,3	0,761
Manioc Amer	Soleil	3,3	0,761
Manioc Amer	Etuve 45°C	5	0,761
K Manioc	Lyophilisé	6,6	0,761
K Manioc	Soleil	3,6	0,761
K Manioc	Etuve 45°C	3	0,761

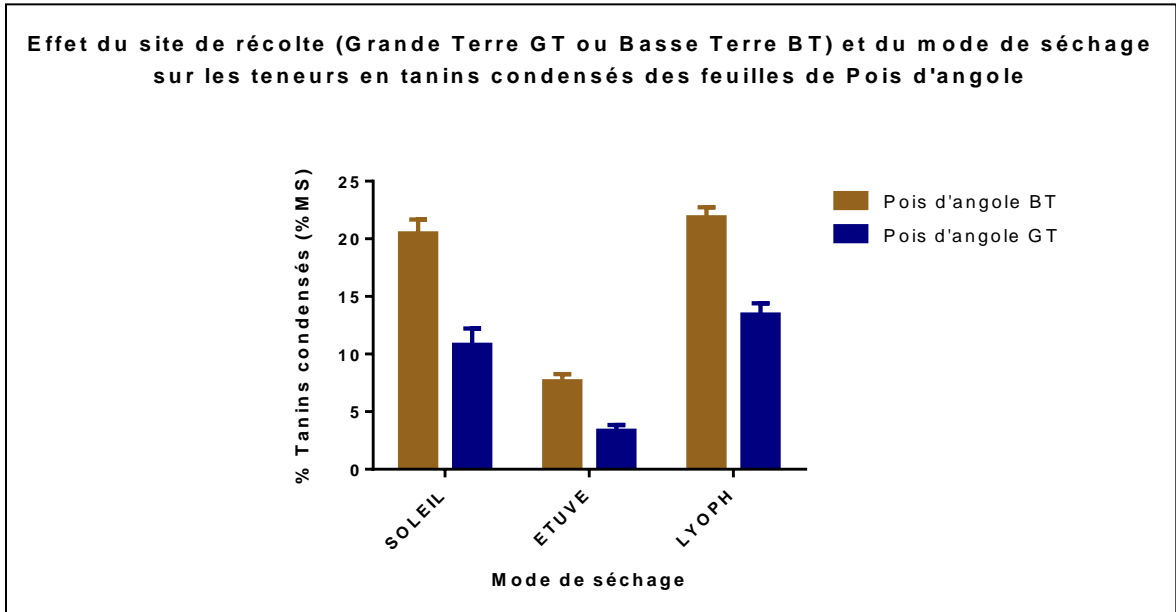


Figure 9 : Effet du site de récolte (GT et BT) et du mode de séchage sur les teneurs en TC des feuilles de pois d'angole

IV. Discussions

A. Considérations générales

Les sites de récolte de nos ressources végétales intègrent une confusion entre au moins 2 composantes : 1) le régime pluviométrique avec des pluies plus abondantes en Basse terre qu'en Grande-Terre ; 2) les sols qui sont plus acides en Basse-Terre qu'en Grande-Terre. Nos ressources provenaient par ailleurs de sites dont le passé agronomique était différent pour les ressources cultivées (Pois d'Angole et Manioc). La pluviométrie et le sol ont des effets connus sur les teneurs en métabolites secondaires (dont les TC) des plantes (Assefa, G. & Al., 2008). Par ailleurs les ressources sont plus ou moins adaptées à une diversité de contexte agropédoclimatiques pouvant induire des stress plus ou moins importants. Bien que pour chacune des ressources nous ayons collectés du matériel végétal d'âges similaires ce facteur n'était pas entièrement contrôlé alors qu'il a un effet sur les teneurs de TC (Cohen S. D. & Al., 2012). En conséquence, nous avons pris les teneurs en protéines et parois en covariable dans nos modèles d'analyse statistique pour corriger d'éventuels biais liés à l'âge dont l'effet sur les métabolites secondaires est connu.

B. Variabilité des teneurs de TC des ressources

Les teneurs moyennes de TC dans nos ressources expérimentales sont conformes à celles rapportées par d'autres auteurs (Assefa et al, 2008) et témoignent principalement d'une très large variabilité biologique naturelle. Les arbustes sont souvent plus riches que les ressources herbacées. Par ailleurs, la sélection génétique des ressources végétales alimentaires consommées par l'homme et/ou l'animal s'est accompagnée par une réduction de leur teneur dans certains métabolites secondaires (dont les tanins) considérés comme facteurs antinutritionnels. A l'inverse ces métabolites sont souvent abondants dans les ressources dites sauvages. Parmi nos ressources expérimentales les manioc sont les cultures qui ont fait l'objet de plus de sélection et introduits dans agrosystèmes réduisant l'emprise des stress climatiques. A l'opposé le leucaena, les variétés présentes en Guadeloupe notamment, sont des

espèces sauvages contrairement à celles sélectionnées dans certains pays (Australie). Le « statut génétique » du pois d'angole est intermédiaire entre les maniocs et le leucaena.

C. Effet des sites sur la variabilité des teneurs de TC des ressources

Toutes nos ressources ont été collectées en milieu et fin de saison sèche. Nous avons fait l'hypothèse que l'effet connu du stress hydrique l'augmentation de la teneur en TC des ressources (Assefa, G. & Al., 2008) serait plus marqué Grande Terre qu'en Basse Terre. Nos résultats ne confirment cette hypothèse que pour le leucaena alors que l'inverse est observé pour le pois d'angole. Les maniocs ont réagi comme le pois mais l'effet site n'était pas significatif. Nous n'avons pas d'explications à ce résultat. Le comportement du leucaena semble atypique et pourrait s'expliquer par la nature des sols (Malmir, H. A., 2012). En effet, contrairement aux maniocs et pois d'angole qui s'adaptent à une large diversité de sols, le leucaena s'adapte mieux aux sols basiques. Des études de type agronomique en milieu contrôlé devraient permettre de confirmer tous ces résultats.

D. Effet du traitement thermique sur la variabilité des teneurs de TC des ressources

Les tanins sont thermolabiles. Un effet dépressif de la température est observé dès 40°C (Palmer, B. & Al., 2000). Nos résultats confirment cet effet dépressif. La lyophilisation qui permet un séchage à température négative a logiquement produit des échantillons plus riches en tanins (Stewart, L. & Al., 2000). Le séchage artificiel à 45°C a considérablement réduit (plus de 50%) les teneurs en TC. La variabilité de l'effet du séchage au soleil pourrait s'expliquer par les caractéristiques physico-chimiques de la ressource qui rend le séchage plus ou moins long. En moyenne, la durée de séchage a été plus longue avec les maniocs. Des études de cinétiques de séchage et dégradation de TC devraient permettre de valider cette hypothèse.

V. Conclusions

Nos travaux ont montré une large variabilité dans les teneurs en TC en fonction de la ressource, la zone de récolte et les méthodes de séchage. Dans une perspective de valorisation les ressources végétales riches en TC, sous forme d'alicament, le séchage au soleil semble être une bonne option sous l'angle à la fois technique et économique.

VI. Références Bibliographiques

Abascal, K., Ganora, L., Yarnell, E., (2005), The Effect of Freeze-drying and its Implications for Botanical Medicine: A Review. *Phytotherapy Research*, **19**, 655–660.

Acero, A., Muir, J. P., and Wolfe, R. M., (2010), Nutritional composition and condensed tannin concentration changes as browse leaves become litter. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **90**, 2582–2585.

Assefa, G., Sonder, K., Wink, M., Kijora, C., Steinmueller, N., Peters, K.J., (2008) Effect of variety and harvesting management on the concentration of tannins and alkaloids in tagasaste (*Chamaecytisus palmensis*). *Animal Feed Science and Technology*, **144**, 242 – 256.

Brunet, S., (2008) Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants, Thèse de Doctorat, Université de Toulouse.

Brzozowska, J., Hanower, P., Tanguy, J., (1973) Polyphénols de feuilles de cotonniers et influence sur leur composition d'un choc hydrique ou nutritionnel. *Phytochemistry*, **12**, 2353 – 2357.

Cohen S.D., Tarara J.M., Gambetta, G.A., Matthews, M.A., Kennedy, J.A., (2012) Impact of diurnal temperature variation on grape berry development, proanthocyanidin accumulation, and the expression of flavonoid pathway genes, *J. Exp. Bot.*, **63**, 2655 – 2665.

Cohen S.D., Tarara J.M., Kennedy J.A., (2008) Assessing the impact of temperature on grape phenolic metabolism. *Analytica chimica acta*, **621**, 57 – 67.

Fernandes de Oliveira, A., Nieddu, G., (2013) Deficit Irrigation Strategies in *Vitis vinifera* L. cv. Cannonau under Mediterranean Climate. Part II - Cluster Microclimate and Anthocyanin Accumulation Patterns. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, **34**, 184 – 195.

Ferreira, E. C., Nogueira, A. R. A., Souza, G. B., Batista, L. A. R., (2004) Effect of drying method and length of storage on tannin and total phenol concentrations in Pigeon pea seeds. *Food Chemistry*, **86**, 17 – 23

Makkar, H.P.S., Becker, K., (1993) Vanillin-HCl method for condensed tannins - Effect of organic solvents used for extraction of tannins. *Journal of Chemical Ecology*, **19**, 613 – 621.

Malmir, H.A., (2012) The Relations Between Phenylalanine–Ammonia Lyase, Glutathione-s-Transferase Activities and the Concentrations of Total Tannins, Phytochelatins, Glutathione, and Peroxidation in two Cultivars of Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) Exposed to Aluminum. *Agricultural Research*, **1**, 240 – 250.

Marie-Magdeleine, M., (2009) Etude de ressources végétales tropicales pour un usage anthelminthique en élevage de ruminants, Thèse de Doctorat, Université Antilles-Guyane.

Nakamura, Y., Tsuji, S., Tonogai, Y., (2003) Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. *Journal of Health Science*, **49**, 45 – 54.

Palmer, B., Jones, R.J., Wina, E., Tangendjaja, B., (2000), The effect of sample drying conditions on estimates of condensed tannin and fibre content, dry matter digestibility, nitrogen digestibility and PEG binding of *Calliandra calothyrsus*. *Animal Feed Science and Technology*, **87**, 29 – 40.

Stewart, L. J., B F Mould, B. F., Mueller-Harvey, I., (2000), The effect of drying treatment on the fodder quality and tannin content of two provenances of *Calliandra calothyrsus* Meissner. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**, 1461 – 1468.

Teixeira, A., Eiras-Dias, J., Castellarin, S.D., Gerós, H., (2013) Berry Phenolics of Grapevine under Challenging Environments. *Int. J. Mol. Sci.*, **14**, 18711 – 18739.

Terrill, T. H. ; Rowan, A. M. ; Douglas, G. B. ; Barry, T. N., (1992) Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *J. Sci. Food Agric.*, **58** (3), 321 – 329.

Zhou, H.-C., Tam, N.F.-y., Lin, Y.-M., Wei, D., Li, Y.-Y., (2012) Changes of condensed tannins during decomposition of leaves of *Kandelia obovata* in a subtropical mangrove swamp in China. *Soil Biology and Biochemistry*, **44**, 113 – 121.

Liste des illustrations

<i>Figure 1 : Structure chimique des tanins condensés</i>	10
<i>Figure 2 : Feuille de manioc</i>	13
<i>Figure 3: Feuilles de leucaena</i>	13
<i>Figure 4: Feuilles de pois d'angole</i>	13
<i>Figure 5 : Réaction d'une unité de catéchine avec la vanilline</i>	15
<i>Figure 6 : Concentrateur miVac</i>	17
<i>Figure 7 : Variabilité de la teneur TC des feuilles de manioc, leucaena et pois d'angole en fonction du site de récolte : Grande-Terre (GT) et Basse-Terre (BT)</i>	20
<i>Figure 8 : Effet moyen du site de récolte (BT et GT) sur la teneur en TC</i>	21
<i>Figure 9 : Effet du site de récolte (GT et BT) et du mode de séchage sur les teneurs en TC des feuilles de pois d'angole</i>	23
<i>Tableau 1 : Composition chimique moyenne des espèces KManioc, Leucaena et pois d'angole</i>	13
<i>Tableau 2 : Composition des préparations à mesurer au spectrophotomètre</i>	18
<i>Tableau 3 : Teneur en Tanins condensés des 4 espèces végétales</i>	20
<i>Tableau 4 : Teneur en TC des 4 espèces végétales sur les 2 sites de récolte</i>	21
<i>Tableau 5 : Teneur en TC des 4 espèces végétales pour 3 modes de séchage (Lyophilisation, Etuve à 45°C et Soleil)</i>	22