

Des végétaux riches en phytoestrogènes pour redorer
l'image des productions animales en terme de santé

PhytoHealth

Porteurs du projet:

Eric Froidmont (D2 – U6)

Jean Michel Romnee (D4 – U14)

Pascal Geerts (D1 – U1)

Véronique Ninane (D4 – U16)

Contexte



Activités d'élevage aux yeux de la société...

Aspects négatifs

Environnement	Gaz à effet de serre, rejets N
Qualité des produits	Graisses saturées, AG trans, cholestérol
Bien-être animal	

Pourtant, ...

Valorisation des co-produits, de territoires...
Maintien d'un tissu rural, de la biodiversité & paysages
Reconnaissance des filières de qualité différenciée (AOP, ω 3, bio...)

Aspect **Environnement**

Aspect **Santé**

} clés pour améliorer l'image des productions animales

Centre wallon de Recherches agronomiques

1. La prairie riche en légumineuses...

Aspect « bien-être »



Aspect « environnement »

Puits de C
Peu exigeante en intrants azotés
Bonne régularité de rendement
Favorise la biodiversité
Autonomie protéique (p/r soja)

et... l'herbe reste le fourrage meilleur marché : gage de durabilité !

Aspect « santé »

Améliore la teneur en $\omega 3$ du lait et de la viande
Richesse en phytoestrogènes des légumineuses

2. Recherche de nouvelles plantes « médicinales »

Innovation

Analytique

Agronomique

Centre wallon de Recherches agronomiques

Les phytoestrogènes... ?



Composés de type flavonoïde

3 catégories : **Isoflavones** (daidzéine, biochanine A, génistéine... légumineuses)
Lignanes (matairesinol, laricirésinol... graines de lin)
Coumestanes

Caractéristiques :

Action oestrogénique ou antioestrogénique (compétition récepteur)
Anti-cancer, anti-oxydant, hypocholestérolémiant, régulateur thyroïdien...
Populations orientales : 45 mg/j vs 5 mg/j en Europe

Daidzéine $\xrightarrow{\text{Action } \mu b}$ Equol
Lignanes $\xrightarrow{\text{Action } \mu b}$ Entérodol - Entérolactone

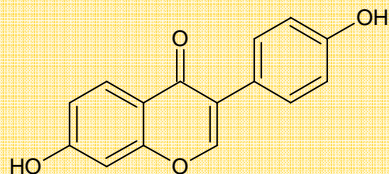
20 à 40% population humaine capable de synthétiser de l'équol

Importance de l'animal

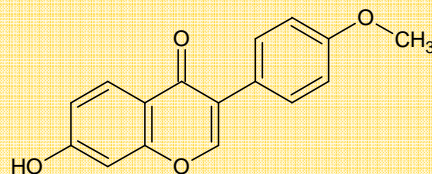
Les isoflavones ... quelques exemples



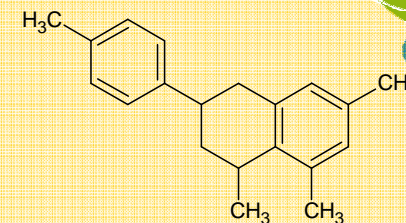
Forme aglycone



Diadzeine

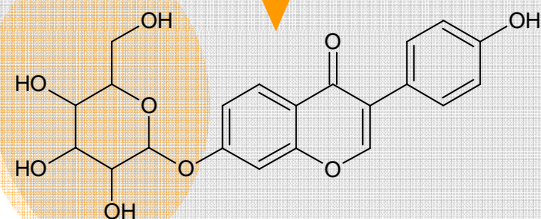


Formononetine

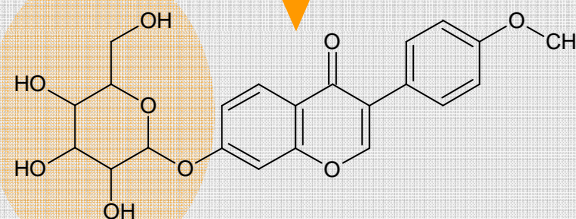


Naringenine

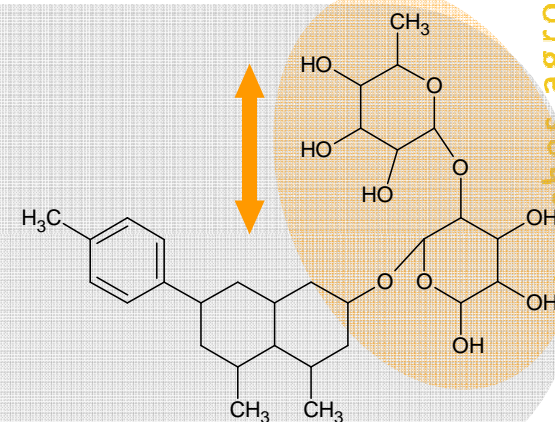
Forme glycosylée



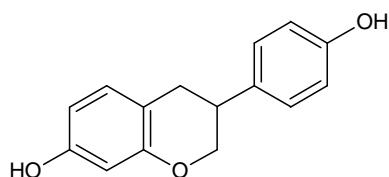
Daidzine



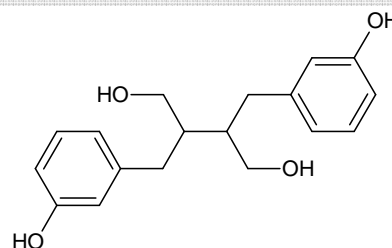
Onotine



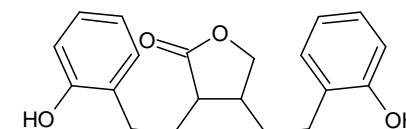
Naringine



Equol



Enterodiol



Enterolactone

Centre wallon de Recherches agronomiques

2. Les plantes médicinales...



Artemisia annua

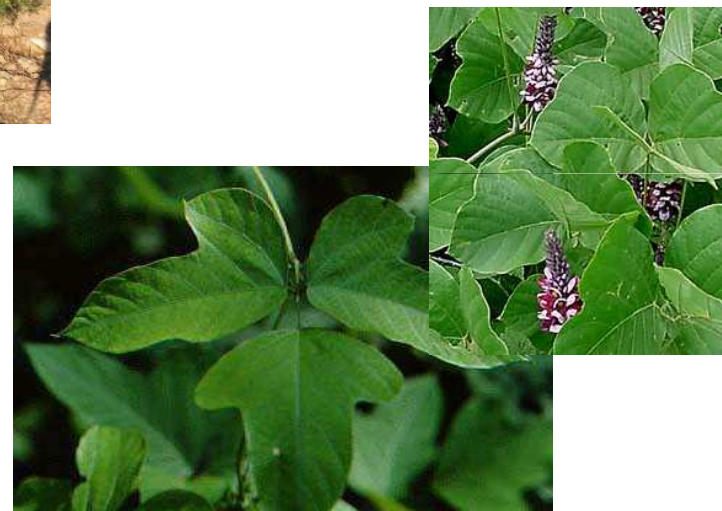


Compléments plus spécifiques
aux monogastriques

Autres profils en isoflavones ?



Angelica archangelica



Pueraria lobata

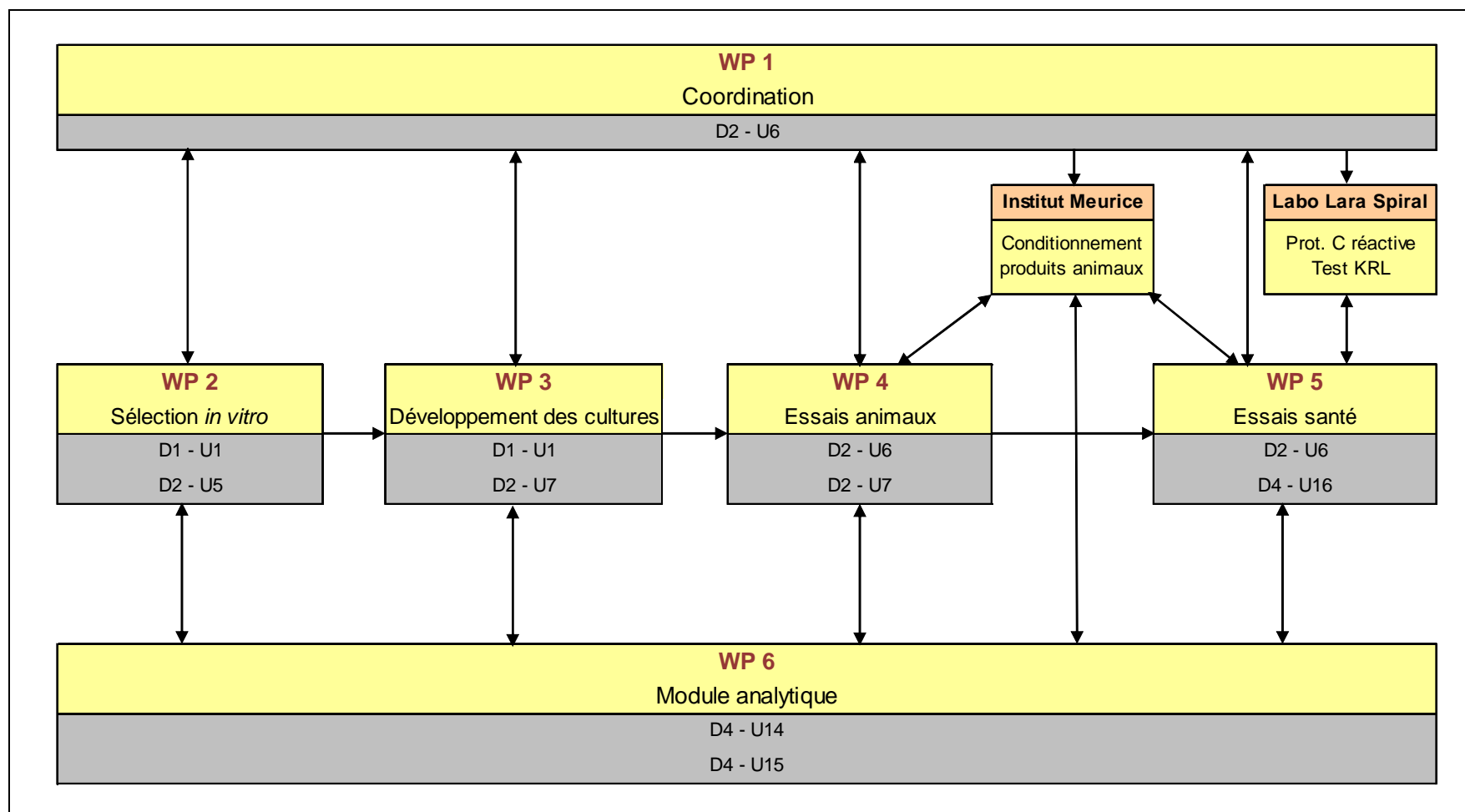
Autres molécules d'intérêt ?

Centre wallon de Recherches agronomiques

Structure du projet



Une recherche intégrée... 3 Départements, 7 UR, 2 partenaires extérieurs



Centre wallon de Recherches agronomiques



WP2. Sélection de végétaux riches en isoflavones



	Légumineuses	Plantes médicinales
Origine	Semences	Collection <i>in vitro</i> ou collecte de matériel sauvage
Sélection 1	Analyse interspécifique , Indication intervariétale	Analyse interspécifique
Constitution d'un germplasm	Bourgeonnement axillaire	Bourgeonnement axillaire
Obtention matériel de base	Création d'un parc à semences	Micro-propagation
Sélection 2	Analyse intraspécifique et choix du matériel Elite	Analyse intraspécifique et choix du matériel Elite
Finalisation	Production de semences	

Feuilles, plusieurs stades de développement

U1: Approches *in vitro* (**P. Geerts** et **J.M. Terzi**)

U5: Semis en serres + récolte matériel expérimental (**H. Magein**)

Centre wallon de Recherches agronomiques

WP3. Obtention de matières premières riches en isoflavones



1. Implantation de légumineuses sur le parcellaire prairial

Mesures : Relevés floristiques, évolution rendement (hauteur, quadra...), valeur alimentaire... p/r couvert 'classique'

+/- 50% du couvert



Luzerne lupuline

U7 : V. Decruyenaere



Centre wallon de Recherches agronomiques

Sainfoin



Centre wallon de Recherches agronomiques



Lotier





Trèfle blanc



Trèfle violet

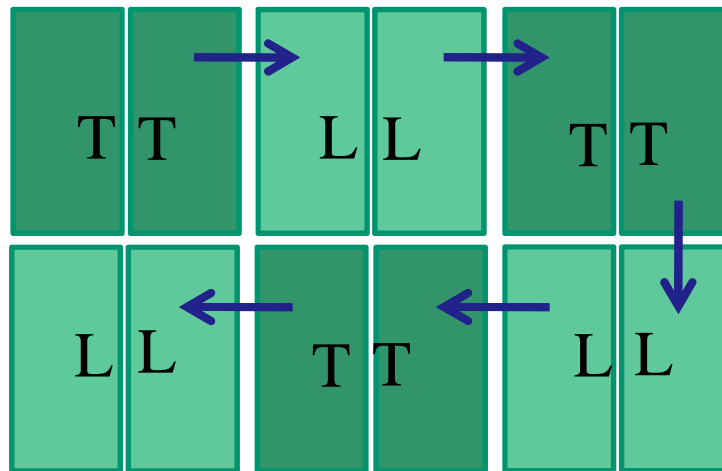
Complémentarité de *l'outil 'prairie'* avec le projet « **GrassMilk** »

- Développement d'un appareil NIR pour la mesure *in situ* de la VA de l'herbe
- Approche plus globale de l'intérêt des légumineuses pour la production de lait à l'herbe

WP4. Incidence de l'ingestion de phytoestrogènes sur la physiologie animale et la qualité des produits



Essais VL (troupeau au pâturage)



Alternance de parcelles « essai » (L) et « témoin » (T)

Approche cinétique (2 parcelles // 15j.)

Prod. Laitière, qualité et composition du lait...

Collecte de lait pour WP4

Centre wallon de Recherches agronomiques

Essais VL en période hivernale (individu)

Régularité d'approvisionnement

Rations 'ensilage d'herbe' avec ou sans légumineuses

Qualité et composition du lait

Devenir des phytoestrogènes (sang, chyme ?)

Physiologie animale



Essais « Poules pondeuses »

6 lots

Accès à un parcours spécifique $\begin{cases} \nearrow \text{T (2)} \\ \searrow \text{L (4)} \end{cases}$

Avec (L) ou sans (T) $\left\{ \begin{array}{l} \text{graines de lin} \\ \text{plantes médicinales} \end{array} \right.$

Performances de ponte, ingestion

Qualité et composition des œufs



U6 : Alimentation et physiologie (**E. Froidmont**)

U7 : Gestion du pâturage (**V. Decruyenaere**)

Centre wallon de Recherches agronomiques

Département Productions et Filières

Unité Nutrition animale et Durabilité

www.cra.wallonie.be

Conditionnement des produits (sous-traitance)



Unité de BioTechnologie

Poudre de lait

Poudre de jaune d'œufs



Séchage

1. Mise au point des paramètres à petite échelle
2. Atomisation (10*100L.)

Centre wallon de Recherches agronomiques

WP5. Incidence de produits animaux enrichis en dérivés de phytoestrogènes sur la santé



12 minipigs, dont certains fistulés au caecum

2 régimes à base de poudre de lait (avec ou sans phytoestrogènes)



De nouveaux aspects analytiques pour le CRA-W...



Métabolisme des molécules d'intérêt

Chyme, Plasma, Urine, Fèces

Impact des molécules d'intérêt sur la santé

Cholestérolémie

Hormone thyroïdienne

Capacité des μ -org fécaux de synthétiser l'équol

Variabilité individuelle

Equilibre bactérien au niveau du tube digestif

Pré-biotiques + indicateur de santé digestive

U6 : Métabolisme et santé (E. Froidmont)

U16 : Aspects microbiologiques (V. Ninane)

Centre wallon de Recherches agronomiques

...et 2 tests innovants en sous-traitance avec Lara Spiral (F)



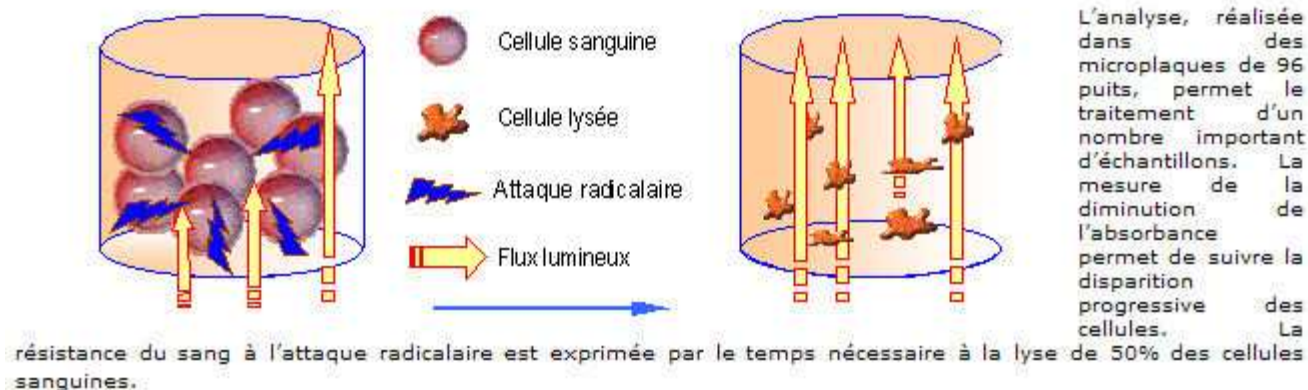
1. Test KRL

Potentiel de défense d'un individu vis-à-vis de l'agression des radicaux libres, impliqués dans beaucoup de pathologies

Objectif : mesurer l'intérêt des phytoestrogènes en tant qu'antioxydant (sang)

Principe du test

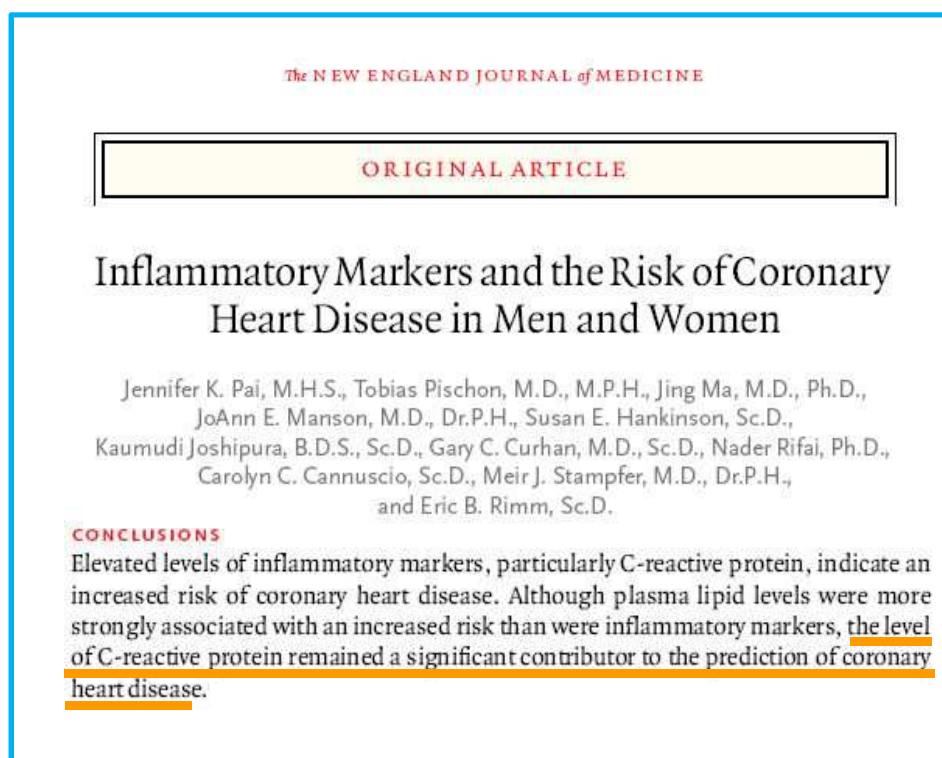
Il s'agit de soumettre un échantillon de sang ou une suspension d'hématies à une agression radicalaire dans des conditions strictement contrôlées et standardisées. Tous les systèmes enzymatiques et chimiques de l'échantillon se mobilisent pour protéger l'intégrité des cellules jusqu'à leur lyse.



Les résultats sont standardisés en E.A.R. (Efficacité Anti-Radicalaire) de manière parfaitement reproductible (CV < 4%).

2. Protéine C réactive

1. Indicateur d'une inflammation
2. Sans inflammation, *facteur de risque d'accident cardiovasculaire* (pour une concentration > 3 mg/L)

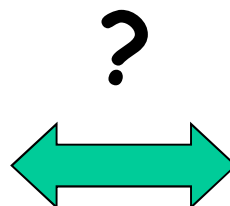


WP6. Analytique

Transversal, « toutes matrices »

UPLC couplée à un spectromètre de masse MSMS (analyse de traces)

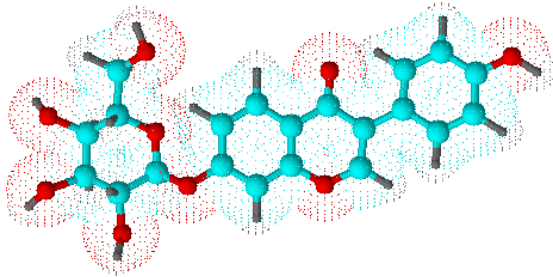
U14 : JM Romnée



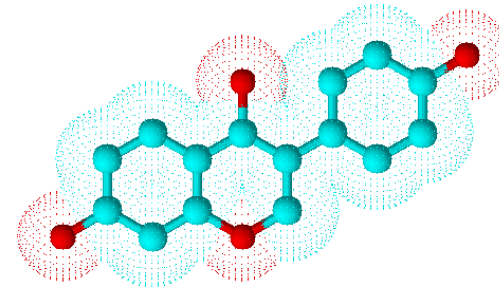
Approche NIR et/ou MIR

U15: V. Baeten

Une partie du WP 5 Analytique

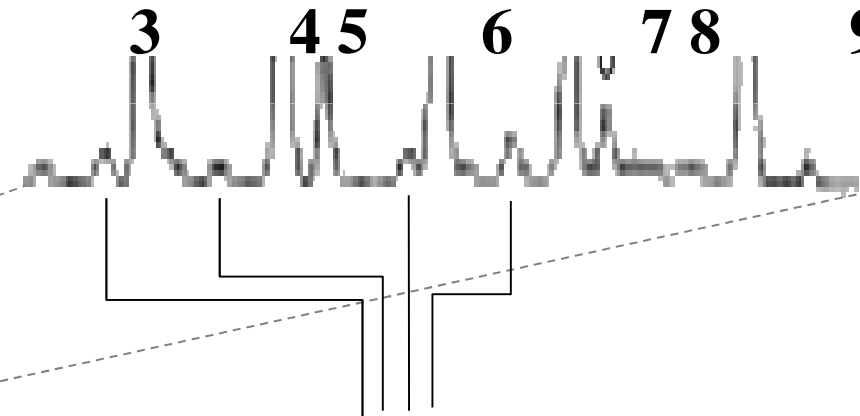
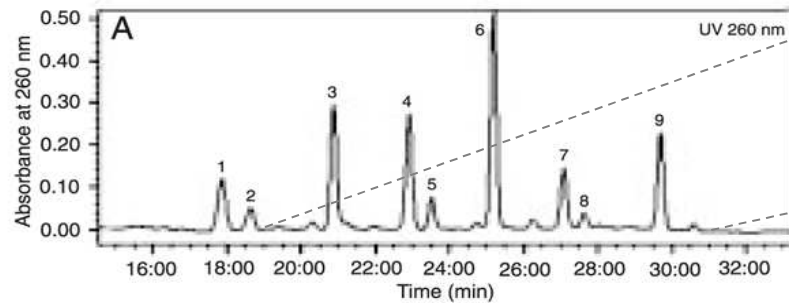


1. Daidzine



7. Daidzeine

- | | | |
|--------------------|---------------------|---------------------|
| 1, daidzin; | 2, glycitin; | 3, genistin; |
| 4, malonyldaidzin; | 5, malonylglycitin; | 6, malonylgenistin; |
| 7, daidzein; | 8, glycitein; | 9, genistein |



? → A identifier et quantifier !!

Profil HPLC de l'extrait methanolique de graines de soja

V.S. Carrara, A.A. Amato, F.A.R. Neves, R.B. Bazotte1, J.M.G. Mandarino, C.V. Nakamura, B.P.D. Filho and D.A.G. Cortez (2009), Effects of a methanolic fraction of soybean seeds on the transcriptional activity of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR), *Braz J Med Biol Res*, Volume 42(6) 545-550

Centre wallon de Recherches agronomiques

Département Productions et Filières

Unité Nutrition animale et Durabilité

www.cra.wallonie.be



Principaux livrables

En plus des acquis scientifiques à chaque étape du projet (publi, rapports spécifiques...)

1 journée d'étude : Présentation des résultats
Echanges entre les mondes agronomique et médical
Nouveaux horizons de recherche ?

1 thèse de doctorat : Co-promotion avec Gbx Agro Bio Tech (Prof. G. Lognay)

Développement de méthodes d'analyse spécifiques des phytoestrogènes et dérivés dans les matrices d'origine végétale et animale

1 thèse de doctorat : Co-promotion avec l'UCL (Prof. Y. Larondelle)

Enrichissement des productions animales en phytoestrogènes et dérivés, validation de leur intérêt « santé »

Correspondance aux thématiques de recherche du CRA-W



1. Préserver l'environnement / produire durablement

Système de production à base d'herbe

2. Améliorer l'alimentation humaine, préserver la santé des consommateurs

Enrichissement en molécules d'intérêt des productions animales

3. Diversifier les produits et leurs usages, améliorer leur compétitivité et celle des producteurs et des entreprises

Lait et œufs = alicaments // Approche des industriels

Approche « plantes médicinales » et diversité des légumineuses

4. Adapter les espèces, les pratiques et les systèmes de production à des contextes changeants

5. Eclairer la décision des acteurs publics et privés

Centre wallon de Recherches agronomiques

Any questions?

