

VALORISATION DES PRODUITS NATURELS PRESENTS DANS LES RESIDUS D'ECORCES D'ESSENCES LIGNEUSES DU QUEBEC PAR LE DEVELOPPEMENT D'UTILISATIONS DANS LE DOMAINE DES ADHESIFS ET DE L'AGRICULTURE

André Pichette¹, Jean Legault¹, Serge Lavoie¹, Dominic Dufour¹, Philippe-Aubert Côté¹, Jean Caron², Rémi Naasz², Daniel Cormier³, Gérald Chouinard³, Maryse Leblanc³, Daniel Lord¹, Jacques Tremblay⁴, Gilles Valade⁵

¹ Département des sciences fondamentales, U. du Québec à Chicoutimi;

² Département des sols et génie agroalimentaire, U. Laval;

³ Institut de recherche et de développement en agroenvironnement.

⁴ Scierie Thomas-Louis Tremblay, Ste-Monique

⁵ Abitibi-Consolidated

1. INTRODUCTION

Le problème de la gestion des résidus forestiers, comme les écorces, est bien connu des gens oeuvrant dans l'industrie forestière. On estime que 3,5 millions de tonnes anhydres d'écorces sont produites chaque année au Québec [1]. Actuellement, il existe peu de voies de valorisation notables de ces écorces autres que la production d'énergie (incinération). Pourtant, ces résidus non valorisés peuvent être des sources très intéressantes de produits fins. En effet, les écorces contiennent généralement une grande quantité d'extractibles (rendements d'extraction élevés) et leurs extraits sont constitués d'une grande variété de produits naturels (composés phénoliques, terpènes, sucres, glycosides, peptides, alcaloïdes, etc.). Plusieurs utilisations fines ont déjà été développées avec certains produits naturels d'origine végétale : des agents anticancéreux vedettes comme le taxol, la vincristine et la vinblastine proviennent de diverses variétés d'ifs (taxol) et de la pervenche de Madagascar. Il existe également de nombreux exemples d'utilisations non pharmaceutiques des produits naturels : préparation d'adhésifs, colorants, etc. Bien que les perspectives d'utilisation des produits naturels issus de la biomasse semblent prometteuses dans plusieurs domaines [2], peu de recherche est consacrée au développement de voies de valorisation fines ici au Québec et au Canada.

Dans ce contexte, deux axes de recherches ont été proposés afin de valoriser les écorces pour le développement de produits fins :

- La vérification du potentiel d'utilisation des produits naturels des écorces comme agents herbicide et insecticide;
- La fabrication de substrats de culture à différentes géométries à partir des écorces lessivées de leurs composés naturels extractibles et la vérification de leur performance en culture de serre et de pépinière.

2. AGENTS HERBICIDES ET INSECTICIDES

Afin de vérifier le potentiel d'utilisation des produits naturels des écorces comme agents herbicide et insecticide, il a été prévu d'effectuer cette série d'étape :

- collecte et préparation du matériel végétal;
- extraction des produits naturels en utilisant une approche d'extraction séquentielle;
- évaluation des activités herbicide et insecticide;
- détermination des principales classes de produits naturels des extraits les plus prometteurs;
- isolation et caractérisation des composés responsables des activités.

2.1 Collecte et préparation du matériel végétal

Le matériel végétal a été obtenu de nos collaborateurs industriels ou récolté sur les monts Valin dans la région du Saguenay-Lac-St-Jean. Les écorces d'épinette noire, de peuplier faux-tremble, de bouleaux blanc et jaune ont été fournies par nos collaborateurs industriels. Les écorces de cèdre, d'épinette blanche et de sapin baumier ont été récoltées sur les monts Valin à partir d'au moins quatre arbres par espèce. Les écorces ont été séchées à 22 C pendant 48 heures avant d'être broyées en fines particules à l'aide d'un broyeur mécanique.

2.2 Extraction des produits naturels

Les produits naturels des écorces ont été extraits avec différents solvants selon une approche d'extraction séquentielle. Les rendements obtenus sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Rendements^a des extraits obtenus selon l'approche d'extraction séquentielle.

Essence	Extrait hexane	Extrait DCM	Extrait MeOH	Extrait MeOH aq.
Épinette noire	8.3%	2.4%	23.1%	2.9%
Sapin Baumier	14.7%	3.6%	12.9%	1.3%
Pin gris	5.9%	1.0%	17.0%	1.0%
Épinette blanche	10.6%	1.4%	62.5%	4.3%
Cèdre	10.6%	3.9%	12.7%	1.3%
Peuplier faux-tremble	6.8%	6.8%	13.3%	1.3%
Bouleau blanc	1.7%	14.4%	5.0%	0.6%
Bouleau jaune	7.3%	8.6%	3.6%	0.9%

masse d'extrait/masse d'écorce séchée après extraction $\times 100$.

2.3 Évaluation des activités herbicide et insecticide

Avant d'effectuer les tests visant à évaluer les activités herbicide et insecticide, il est nécessaire de formuler les différents extraits. Les extraits doivent être compatibles avec un milieu aqueux, et le co-solvant utilisé (si nécessaire) pour la formulation ne doit pas présenter de toxicité notable. Ainsi, les différents essais de solubilité ont permis de constater que les extraits à l'hexane et au dichlorométhane sont formulables en présence d'acétone et que les extraits au méthanol et à l'eau sont formulables en présence de méthanol.

Les quatre extraits de chaque type d'écorce ont été testés pour leurs activités herbicide et insecticide. Brièvement, l'impact des extraits sur la germination des graines a été mesuré sur deux espèces de mauvaises herbes : l'amaranthe à racine rouge (*Amaranthus retroflexus*) et la sétaire glauque (*Setaria glauca*). Les essais ont permis d'identifier cinq extraits significativement actifs contre l'amaranthe : les extraits des écorces de bouleau jaune (hexane), de peuplier faux-tremble (hexane, dichlorométhane et méthanol) et de sapin baumier (hexane). Aucun effet anti-germinatif n'a été décelé contre la sétaire glauque. L'extrait à l'hexane des écorces de sapin baumier et l'extrait au dichlorométhane des écorces de peupliers faux-tremble ont été utilisés pour la suite de ce travail puisqu'ils ont montré la plus forte activité herbicide.

Le potentiel insecticide des extraits a été évalué par exposition directe et par ingestion contre trois espèces d'insectes : la tordeuse à bandes obliques, le charançon de la prune et le calandre du grain. En raison de la difficulté à obtenir un nombre suffisant d'adultes de charançon de la prune pour tester tous les extraits, le calandre du grain, *Sitophilus granarius*, un coléoptère facile à élever en laboratoire et appartenant à la même famille que le charançon de la prune a été utilisé comme « insecte-modèle » de façon à ne tester contre le charançon de la prune que les extraits bioactifs contre le calandre du grain. Parmi l'ensemble des tests effectués pour le volet insecticide, seul l'extrait d'écorces de sapin baumier (hexane) a montré une activité insecticide significative contre les larves néonates de la tordeuse à bandes obliques. Cet extrait a été utilisé pour la suite du travail.

2.4 Détermination des principales classes de produits naturels des extraits les plus prometteurs

Le criblage phytochimique est une méthode rapide pour l'identification préliminaire des principales classes de produits naturels présents dans une plante. Il est possible d'identifier plusieurs grandes classes de produits naturels en observant l'apparence du milieu réactionnel obtenu à la suite de réactions chimiques spécifiques (évaluation colorimétrique). L'identification des grandes classes de produits naturels effectuée par l'évaluation colorimétrique préliminaire permet de sélectionner rapidement les conditions de séparation en chromatographie sur couche mince des différentes composantes d'un extrait. Quelques ouvrages détaillent avec une grande précision les conditions optimales de séparation, de révélation et les résultats attendus pour diverses classes de produits naturels en chromatographie sur couche mince. De plus, il est souvent possible de raffiner l'identification des principales classes de produits naturels à partir des résultats obtenus en chromatographie sur couche mince. Cette approche de criblage phytochimique a permis de déterminer que l'extrait de sapin baumier est majoritairement constitué de terpènes (mono-, di-, tri-, sesqui-) tandis que celui du peuplier faux-tremble est riche en polyphénols et en terpènes.

2.5 Isolation et caractérisation des composés responsables des activités

Les deux extraits les plus prometteurs pour la poursuite du projet ont été sélectionnés pour les travaux de purification qui devraient mener à l'identification des produits responsables de l'activité. Il s'agit des extraits d'écorces de sapin baumier (hexane) et de peuplier faux-tremble (dichlorométhane). Au départ, il a été nécessaire d'effectuer des extractions sur des grandes quantités d'écorces afin d'obtenir des quantités d'extraits suffisantes pour l'ensemble des travaux de purification. Ainsi, les extractions effectuées sur les écorces de sapin baumier ont permis d'obtenir plus de 139 g d'extrait (18 % de rendement), et celles effectuées sur les écorces de

peuplier faux-tremble ont permis de recueillir plus de 35 g d'extrait (4 % de rendement). Les travaux de purification ont permis de séparer l'extrait d'écorces de sapin baumier en 7 fractions en utilisant comme éluant un mélange hexane:acétate d'éthyle (en gradient de 95:5 à 90:10). L'extrait des écorces de peuplier faux-tremble a été séparé en 8 fractions en utilisant comme éluant un mélange chloroforme:méthanol (en gradient de 20:1 à 15:1 suivi de 10:1 et suivi de méthanol pur). Aucune des fractions obtenues n'a démontré une activité herbicide significative. Trois fractions de l'extrait à l'hexane des écorces ont montré une forte activité insecticide (tordeuse à bandes obliques), en particulier la moins polaire. Cette dernière a été fractionnée finement et les trois produits majoritaires isolés n'ont pas montré d'activité insecticide significative.

3. FABRICATION DE SUBSTRATS DE CULTURE

Cet axe de recherche désireait vérifier le potentiel d'utilisation des écorces pour la fabrication de substrats horticoles. Ce type de substrat pourrait éventuellement remplacer les deux principaux substrats commerciaux actuellement utilisés en culture serricole, la laine de roche et la tourbe blonde de sphaigne dont les coûts énergétiques et environnementaux sont très importants.

Il est important d'indiquer que les substrats directement élaborés à partir d'écorces fraîches semblent causer une diminution de croissance chez la plante. Plusieurs hypothèses ont été évoquées pour expliquer la phytotoxicité apparente des écorces. Elle pourrait être due à des concentrations élevées de certaines molécules organiques, comme les composés phénoliques et les terpènes. Il pourrait s'agir également de fortes concentrations en manganèse et en zinc, parfois observées dans les écorces fraîches, causant des désordres métaboliques et des inhibitions de croissance chez les plantes. La toxicité pourrait aussi être le résultat de phénomènes d'immobilisation de certains éléments nutritifs (essentiellement nitrates). Enfin, des travaux récents suggèrent que la géométrie des particules d'écorce (forme, taille) peut créer des barrières aux échanges gazeux et donc être en partie responsable de ces pertes de croissance.

Dans ce contexte, les travaux de recherche ont débuté par l'étude préliminaire de la phytotoxicité éventuelle de sept essences d'écorces différentes, traitées (lavées à l'eau à 70 °C) et non traitées, ainsi que la phytotoxicité d'un substrat témoin (laine de roche), sur deux plantes horticoles modèles (laitue et tomate). Les essences testées sont les suivantes : pin gris, épinette noire, épinette blanche, bouleau blanc, peuplier faux-tremble, cèdre et sapin baumier. Deux types de tests de phytotoxicité ont été réalisés en chambre de croissance: 1) un test biologique rapide (2 à 6 jours) ou test de germination sur la laitue, dans lequel l'indice de germination et l'élongation racinaire sont mesurés 2) un test biologique à plus long terme (4 semaines) ou test de croissance de jeunes plants sur la tomate, dans lequel la production de matière végétale et le diamètre des tiges sont mesurés. Pour l'ensemble des sept essences d'écorces testées, il semble tout d'abord que le traitement des écorces (lavage) n'ait pas d'influence significative sur les quatre paramètres physiologiques mesurés. Les résultats de ces deux tests indiquent également que les meilleurs indices de germination et les meilleurs rendements sont obtenus avec le bouleau blanc non traité, significativement supérieur à tous les autres substrats, y compris le substrat témoin (laine de roche). Pour compléter l'interprétation de nos résultats, nous avons également effectué, sur ces mêmes écorces, une série de caractérisations physiques (masse volumique apparente sèche, teneur en eau, teneur en air à capacité en pot, porosité totale et distribution granulométrique) et de caractérisations chimiques (pH, conductivité électrique) et nous avons tenté de corrélérer ces caractéristiques aux différents paramètres biologiques mesurés. La meilleure corrélation est

obtenue avec la porosité d'air du substrat, fortement corrélée à la production de matière sèche aérienne pour la tomate et à l'indice de germination pour la laitue. Sans complètement invalider l'hypothèse de phytotoxicité des écorces fraîches (reliée aux composés phénoliques, terpènes et autres), ces résultats semblent indiquer qu'il existe un autre facteur (facteur aération), ou tout au moins un facteur complémentaire, expliquant la phytotoxicité apparente des écorces, entraînant alors une réduction de croissance des végétaux cultivés sur certains substrats à base d'écorces.

Dans un deuxième temps, des essais en serre ont été effectués afin de vérifier l'hypothèse selon laquelle la taille des particules d'écorces a une influence sur les propriétés de transfert des gaz et donc sur les performances agronomiques dans la culture de la tomate (*Lycopersicon esculentum* hybride « Trust »). Ces plantes ont été cultivées sur des écorces traitées et non traitées, de deux fractions différentes (une fraction fine de 1-2 mm et une fraction grossière de 10-20 mm) subissant deux systèmes d'aération différents. Un substrat témoin (laine de roche) a également été testé. Les écorces de bouleau blanc, qui ont donné les meilleurs résultats de germination et de croissance de jeunes plants de tomate et de laitue, et les écorces d'épinette noire, qui ont donné des rendements médiocres mais dont la disponibilité (en terme de volume de résidus) est importante, ont été utilisées pour cette série de tests. Sommairement, les résultats indiquent que des rendements identiques à ceux de la laine de roche ont été obtenus avec les écorces de bouleau blancs et d'épinette, traité ou pas. Par contre, en accord avec les conclusions des tests de phytotoxicité, les résultats ont démontré que la fabrication de substrat avec des écorces de bouleau de taille grossière (et donc susceptible d'amener des effets de manque d'air par restriction des échanges gazeux) a réduit de façon significative le rendement de la tomate. Cette expérience en serre permet donc de vérifier que l'apparente phytotoxicité est en partie liée à une restriction des échanges gazeux, elle-même tributaire de la taille des particules d'écorce. Les travaux exécutés correspondent donc au plan prévu, à l'exception des espèces témoins qui ont été changés pour des raisons pratiques. Ce changement est sans impact sur la validité des résultats. Les résultats des travaux de recherche dédiés à la fabrication de substrat de culture à partir des écorces seront sous peu présentés (soumission prévue pour le début septembre 2007) pour fins de publication à la prestigieuse revue *European Journal of Soil Science*.

4. CONCLUSION

En conclusion, cette subvention a permis de démontrer que les écorces de bouleau blanc possédaient un réel potentiel d'utilisation pour la fabrication de substrat de culture et que la taille des particules (et la porosité d'air en résultant) pouvaient créer des effets apparents de phytotoxicité. Avec les paramètres optimisés, le taux de germination et la vitesse de croissance des plants ont été significativement augmentés.

Cette subvention a également permis de démontrer que les extraits d'écorces de sapin baumier et de peuplier faux-tremble possédaient des activités herbicide et insecticide. Les travaux visant à identifier les composés responsables de ces activités n'ont malheureusement pas permis d'identifier formellement les dits composés. En effet, les composés majoritaires isolés des fractions actives (obtenues du premier fractionnement) n'ont pas montré d'activité. Nous croyons que les activités observées de ces fractions étaient dues en grande partie à certains composés minoritaires. Les quantités de composés nécessaires pour la réalisation des tests a été un facteur limitant.

5. BIBLIOGRAPHIE

- [1] Ministère des Ressource Naturelles et de la Faune, Ressources et Industries Forestières, Portrait Statistique Édition 2007, 506 pages.
- [2] Kaufman, P. B.; Cseke, L. J.; Warber, S.; Duke, J. A.; Brielmann, H. L. Natural products from plants. CRC Press, Boca Raton, 1999, 343 pages.