



HAL
open science

Approche métabolomique combinant l'analyse LC-MS/MS et les réseaux moléculaires pour suivre les constituants bioactifs des amandes de *Calophyllum inophyllum* (tamanu) pendant le processus de séchage

Emilie Stierlin, Raimana Ho, Stephane Greff, Gaëtan Herbette, Phila Raharivelomanana

► To cite this version:

Emilie Stierlin, Raimana Ho, Stephane Greff, Gaëtan Herbette, Phila Raharivelomanana. Approche métabolomique combinant l'analyse LC-MS/MS et les réseaux moléculaires pour suivre les constituants bioactifs des amandes de *Calophyllum inophyllum* (tamanu) pendant le processus de séchage. Arbres et autres plantes de la cosmétopée: Perspectives d'innovation et de valorisation des filières en Outre-Mer, Mar 2022, Cayenne, Guyane française. , 2022. hal-03629506

HAL Id: hal-03629506

<https://amu.hal.science/hal-03629506>

Submitted on 4 Apr 2022

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.

Approche métabolomique combinant l'analyse LC-MS/MS et les réseaux moléculaires pour suivre les constituants bioactifs des amandes de *Calophyllum inophyllum* (*tamanu*) pendant le processus de séchage

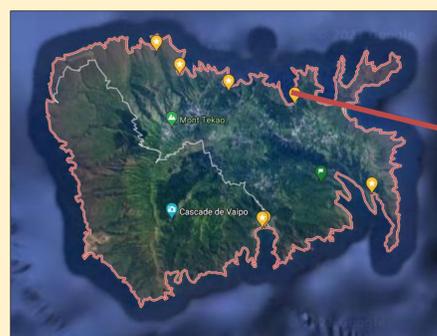
Émilie STIERLIN¹, Raimana HO¹, Stéphane GREFF², Gaëtan HERBETTE³, and Phila RAHARIVELOMANANA¹.

¹UNIV. POLYNÉSIE FRANÇAISE, IFREMER, ILM, IRD, EIO UMR 241, TAHITI, POLYNÉSIE FRANÇAISE, ²IMBE CNRS IRD, AMU-AU, rue de la Batterie des Lions, 13007 Marseille, France, ³AMU, CNRS, Centrale Marseille, FSCM, Spectropole, 13013 Marseille, France.

Contact : emilie.stierlin@upf.pf

Contexte

L'huile de *tamanu*, obtenue à partir des amandes de *Calophyllum inophyllum* L. (Calophyllaceae), est traditionnellement utilisée pour soigner divers problèmes et affections cutanées en Polynésie française [1]. Les amandes et l'huile qu'elles contiennent sont également utilisées pour les soins de la peau [2]. Elles sont connues pour traiter différents types d'affections cutanées et utilisées comme ingrédient cosmétique naturel [3]. Le séchage des amandes étant une étape importante pour la préparation de l'huile, l'objectif de notre étude était de **développer une méthode analytique pour évaluer la qualité de l'huile pendant le processus de séchage des amandes et en fonction de différents paramètres de séchage**. Dans ce projet, nous proposons d'utiliser une **approche métabolomique** utilisant les réseaux moléculaires pour **identifier les marqueurs induisant une variabilité de la composition chimique pendant le processus de séchage des amandes de *tamanu*** et identifier des constituants encore non identifiés.



Sites de collecte à Nuku Hiva

Stratégie



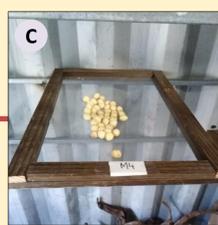
Hatheuu, 508°49.679' W 140°04.897'



(A) Collecte aux îles Marquises entre juillet et décembre 2020



(B) Ouverture des coques



(C) Séchage des amandes entre 0 et 10 semaines

SÉCHAGE

EXTRACTION



Extraction à l'échelle du laboratoire : Broyage de 15 ± 2 g d'amandes sèches, macération avec de l'acétate d'éthyle (EtOAc), sonication et concentration de l'extrait.

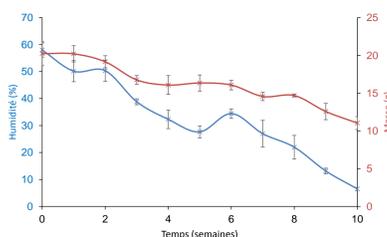
ANALYSES LC-DAD ET UPLC-MS/MS



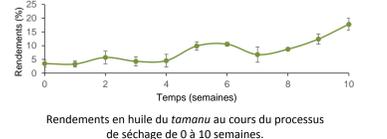
≈ 135 extraits résinoïdes analysés en Polynésie française (LC-DAD, Luna C18 (250 x 4,6 mm, 3 µm)) et à Marseille (UPLC-QqToF-MS/MS, Luna C18 (150 x 2,1 mm, 1,6 µm)).

Objectifs : (1) Évaluer la qualité de l'huile par les rendements d'extraction et les compositions chimiques durant le processus de séchage
(2) Évaluer l'efficacité du processus de séchage par une approche métabolomique

Évolution des métabolites d'amandes de *tamanu* durant le processus de séchage

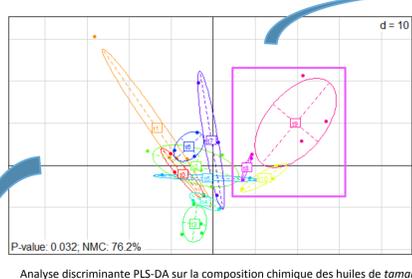


Évolution des pourcentages d'humidité (bleu) et de la masse (orange) des amandes de *tamanu* au cours du processus de séchage de 0 à 10 semaines.



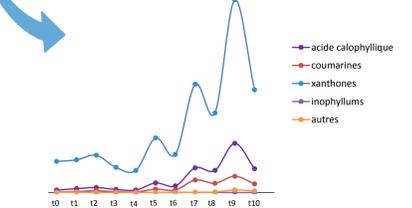
Rendements en huile de *tamanu* au cours du processus de séchage de 0 à 10 semaines.

- Principales observations :**
- Perte de masse des amandes d'environ 10% de t0 à t10 (de 20 à 11%).
 - Diminution de la teneur en eau de t0 à t10 (de 58% à environ 6%).
 - Augmentation du rendement d'extraction de l'huile (de 3,5% à t0 à 17,8% à t10)
 - Compositions chimiques différentes de t8 à t10 par rapport aux autres durées (valeur P < 0,05).
 - ↑ taille du nœud = ↑ score VIP
 - Inocalophylline B et inophyllum E, marqueurs chimiques des amandes au début du séchage.
 - Calédonixanthone B, marqueur en fin de séchage.

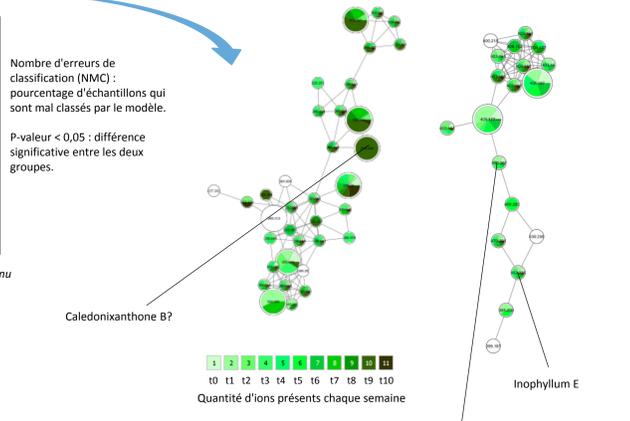


Analyse discriminante PLS-DA sur la composition chimique des huiles de *tamanu* en fonction du processus de séchage de 0 à 10 semaines.

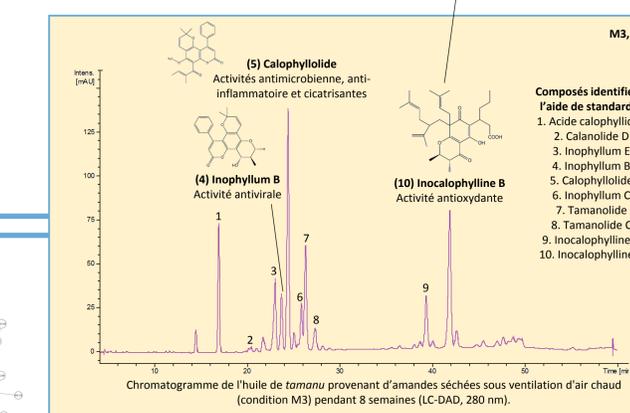
Quels composés peuvent influencer ces différences ?
VIP = Variable importance in the projection = m/z qui ont un impact dans la discrimination des groupes



Évolution des familles chimiques les plus représentées dans les VIPs au cours du processus de séchage.



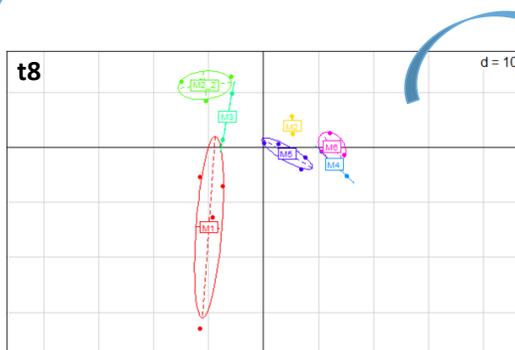
Quantité d'ions présents chaque semaine



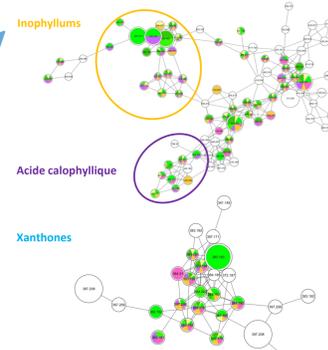
Chromatogramme de l'huile de *tamanu* provenant d'amandes séchées sous ventilation d'air chaud (condition M3) pendant 8 semaines (LC-DAD, 280 nm).

- Composés identifiés à l'aide de standards :**
1. Acide calophyllique
 2. Calanolide D
 3. Inophyllum E
 4. Inophyllum B
 5. Calophyllolide
 6. Inophyllum C
 7. Tamanolide
 8. Tamanolide C
 9. Inocalophylline A
 10. Inocalophylline B

Composition chimique et méthodes de séchage



Analyse discriminante PLS-DA sur la composition chimique des huiles de *tamanu* en fonction des méthodes de séchage.



Quantité d'ions présents dans chaque méthode

- Principales observations :**
- Pas de différence significative entre les méthodes ?
 - Similitude de la composition chimique (3 groupes) :
- M1+M2-2+M3 (1)
- M2+M5 (2)
- M4+M6 (3)
 - ↑ diversité des composés dans M1, M2-2 et M3
 - Meilleurs rendements pour M3 et M5



6 méthodes de séchage différentes testées à Taiohae, Nuku Hiva (septembre 2020) : M1 : en extérieur ; M2 : en extérieur couvert ; M3 : sous ventilation (air chaud) ; M4 : en conteneur ventilé ; M5 : en conteneur fermé (non ventilé) ; M6 : identique à M3 mais avec des amandes coupées. M2-2 : identique à M2 mais récolte en janvier 2020 (graines sèches).

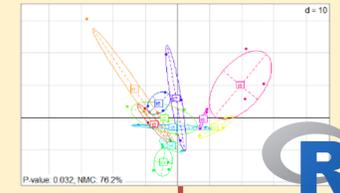
PRÉ-TRAITEMENT

Workflow4metabolomics



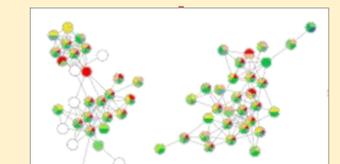
Alignement sur W4M
110 échantillons
1176 ions

ANALYSES DISCRIMINANTES



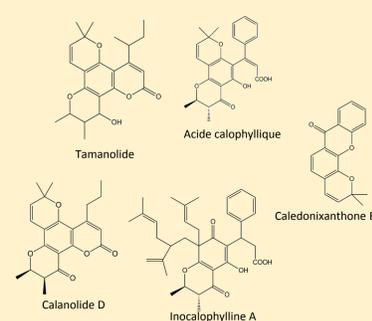
R packages: mixOmics (fonction *plsda*), ade4 (représentation graphique), RVAideMemoire (composés discriminants)

RÉSEAUX MOLÉCULAIRES



GNPS Cytoscape

ANNOTATION ET IDENTIFICATION



Conclusion et perspectives

En utilisant une approche métabolomique combinant l'analyse LC-MS/MS et les réseaux moléculaires, les données obtenues ont révélé des différences au sein des classes chimiques de métabolites présents dans les huiles (néoflavonoïdes, coumarines, xanthones et triterpènes). Les inophyllums semblaient être plus abondants au début du processus de séchage par rapport à l'acide calophyllique après neuf semaines. Pour la première fois, notre étude fournit de nouveaux résultats concernant l'occurrence et l'évolution des métabolites dans les amandes de *tamanu* pendant le processus de séchage. Des marqueurs induisant une variabilité de la composition chimique pendant le séchage des amandes de *tamanu* ont pu être identifiés. La méthode développée fournit un **bon outil analytique** qui apporte une **meilleure identification des composés bioactifs formés dans les amandes de *tamanu* pendant le processus de séchage** et sera utile pour produire une huile de qualité en tant qu'ingrédient cosmétique naturel. De plus, cette approche métabolomique mise en place dans le cas du *C. inophyllum* pourra être utilisée pour l'étude des métabolites provenant d'une large gamme de plantes.

Remerciements

Les auteurs remercient Hugues Chaze pour avoir fourni des amandes de *tamanu*. Nous remercions également tous les partenaires impliqués dans le projet Tam-Tam financé par le Projet Recherche et Innovation 2019 (RIP 3) et la Compagnie des plantes marquisiennes.

Références

- [1] Pétard, P., et al., 2019, Papeete: Éd. Haere Po No Tahiti
- [2] Légouillier et al., PlosOne, 2015, 10(9):e0138602, doi:10.1371/journal.pone.0138602.
- [3] Raharivelomanana et al., OCL, 2018, 25(5), doi:10.1051/ocl/2018048.