

**ASSOCIATION POUR LA PROMOTION  
DES EXTRAITS FOLIAIRES EN NUTRITION  
APEF**

Siège social : 8 rue d'Athènes - 75009 PARIS

**Un nouveau concept nutritionnel  
pour l'homme**

**L'extrait foliaire de luzerne**

Dr. V. **ZANIN**, Octobre 1998,

**Avec la collaboration :**

du Pr. Ph. **BOUCHET** (UFR de Pharmacie de Reims), du Pr. H. **CHOISY** (CHU de Reims), du Pr. J.C. **DILLON** (Institut des Cordeliers de Paris), de Mme E. **HENNEQUIN** (Cavisa), du Dr. E. **KARIGER** (CHU de Reims), du Dr. C. **RECCHIA** (nutritionniste), de Mr. E. **SEILER** (France Luzerne), de Mr. B. **THAREL** (Sélectionneur),

**Et de :**

Mme I. **GASTINEAU**, Mr. R. **DOUILLARD**, Mr O. de **MATHAN**, Mr J.M. **MOJON**, membres de l'APEF et Mr J. **SUBTIL** Président.

<b>PROLOGUE</b>	4
<b>CHAPITRE I : La luzerne</b>	5
I 1 Origines et génétique	5
I 1.1 Historique	5
I 1.2 Génétique de la luzerne	5
I 1.2.1 Espèces	5
- <i>Medicago sativa</i>	
- <i>Medicago falcata</i>	
- <i>Hybrides (varia)</i>	
I 1.2.2 Populations cultivées en France	5
- <i>Type Provence</i>	
- <i>Type Flamand</i>	
I 2 Culture de la luzerne	6
I 2.1 Conditions environnantes	6
* Le sol	6
* La température	6
* L'hydratation	6
* La luminosité	6
I 2.2 Croissance	6
I 2.3 Les traitements	6
* Le désherbage	7
* Lutte contre les insectes	7
* Le traitement des semences	7
I 2.4 Impact des cultures de luzerne sur l'environnement	7
I 2.4.1 La luzerne, plante écologique	7
I 2.4.2 Minéralisation	7
I 3 Récolte et conservation de la luzerne	7
- L'affouragement	7
- Le pâturage	7
- L'ensilage	8
- Le foin	8
- Le haylage et l'enrubannage	8
- La déshydratation	8

<b>CHAPITRE II : Le concentré de luzerne</b>	9	
II 1 Procédé industriel	9	
II 1.1 Broyage et pressage de la luzerne	9	
II 1.2 Thermocoagulation des protéines	9	
II 1.3 Séparation du coagulum	10	
II 1.4 Séchage et stockage	10	
II 1.5 Utilisation des coproduits	10	
II 1.6 Homogénéité de l'extrait foliaire	10	
II 2 Procédé artisanal	11	
<b>CHAPITRE III : Intérêt du concentré foliaire en alimentation animale</b>	13	
<b>CHAPITRE IV: Composition du concentré foliaire de luzerne :</b>	14	
IV 1 Composition nutritionnelle	14	
IV 1.1 Composition en protéines et acides aminés	14	
IV 1.2 Les lipides	16	
IV 1.2.1 Acides gras	16	
IV 1.2.2 Les pigments	17	
IV 1.2.3 Les stérols	17	
IV 1.2.4 Les quinones	17	17
IV 1.3 Les hydrates de carbone	17	
IV 1.4 Les fibres	18	
IV 1.5 Les vitamines	18	
IV 1.6 Matières minérales	19	
IV 1.7 Valeur énergétique	21	
IV 1.8 Etude de la variabilité des résultats	21	
IV 2 Toxiques et facteurs antinutritionnels	22	
IV 2.1 Analyse de métaux lourds et de résidus de pesticides	22	
IV 2.2 Analyse de composés naturels antinutritionnels	22	
IV 2.2.1 Les saponines	22	
IV 2.2.2 Les polyphénols	23	
IV 2.3 Analyse d'autres facteurs toxiques	23	
IV 2.4 Les extraits foliaires des autres végétaux	23	

<b>CHAPITRE V : Intérêts du concentré foliaire en alimentation humaine</b>	<b>25</b>
V 1 Associations de lutte contre la malnutrition	25
V 1.1 Leaf for Life	26
V 1.2 Association pour la Promotion des Extraits Foliaires en nutrition (APEF)	26
V 2 Méthodologie et résultats	26
V 2.1 Effets contre l'anémie	27
V 2.2 Effets contre les carences en vitamine A	29
V 2.3 Extraits foliaires et développement intellectuel	29
V 2.4 Acceptabilité	30
V 2.5 Effets indésirables relatifs	30
<b>CHAPITRE VI : Analyse et commentaires</b>	<b>31</b>
VI 1 Le bilan	31
VI 2 Perspectives et stratégie de développement	32
VI 2.1 Les extraits foliaires, étude nutritionnelle	32
1. Confirmer l'efficacité des extraits foliaires	32
2. Valider scientifiquement l'intérêt des extraits foliaires en nutrition	32
VI 2.2 Les extraits foliaires dans les pays en développement	32
1. La méthode artisanale	33
2. La méthode industrielle	33
VI 2.3 Production d'extraits foliaires en France	33
1. Promotion des extraits foliaires puis développement de la consommation	33
2. Les interventions d'urgence	34
3. Les interventions palliatives	34
4. Perspectives pour l'industrie française	34
<b>EPILOGUE</b>	<b>35</b>
<b>ANNEXE 1 : Personnalités du milieu médical et/ou scientifique apportant leur concours au projet</b>	<b>36</b>
<b>ANNEXE 2 : Méthodes de dosage</b>	<b>38</b>
<b>ANNEXE 3 : Bibliographie</b>	<b>39</b>

## PROLOGUE

Par le président de l'APEF, Jacques SUBTIL

Dans les années 75-80, quelques responsables du Groupe Coopératif agricole FRANCE LUZERNE, spécialisé dans les fourrages déshydratés, remarquent qu'une de leur fabrication, un concentré de feuilles de luzerne, pourrait convenir à la consommation humaine, moyennant quelques modifications du procédé d'extraction.

En 1993, ils créent l'Association pour la Promotion des Extraits Foliaires en Nutrition (APEF), association à but non lucratif, pour étudier, mettre au point, expertiser puis développer cette innovation. Celle-ci consiste à extraire les composants nutritifs les plus riches (protéines, vitamines et oligo-éléments) de la luzerne ou de certains végétaux verts et de les apporter ensuite, sous forme de concentrés secs parfaitement digestibles, en supplémentation des rations de base des individus malnutris.

Plusieurs essais de consommation d'extraits foliaires de luzerne, en tant que suppléments nutritionnels chez des populations malnutries (enfants de 6 mois à 6 ans, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées), ont été réalisés avec succès en Roumanie, Chine et Nicaragua. Les premiers résultats obtenus confirment la capacité nutritionnelle de ces concentrés : les extraits foliaires utilisés à faible dose (6 à 10 g par jour) corrigent efficacement les carences nutritionnelles, ils améliorent la santé des individus et le développement des enfants. Ils permettent également d'éviter certaines maladies associées à la malnutrition et en particulier, l'anémie, les diarrhées, les affections respiratoires et la cécité (xérophtalmie).

Notons également qu'une association caritative anglaise (Leaf For Life) pilote, dans plusieurs pays d'Asie et d'Amérique Centrale, des centres d'extraction des protéines à partir de végétaux verts locaux, sous forme simplifiée. Malgré leur rusticité, ces concentrés ont déjà apporté des résultats très satisfaisants relatés dans plusieurs publications médicales.

Ce nouveau concept de supplément nutritionnel apparaît de plus en plus comme une innovation susceptible d'apporter une solution efficace et permanente au déséquilibre alimentaire des familles ou des populations en difficulté. Grâce à leur grande richesse, notamment en lysine, tryptophane, fer, calcium, vitamines, les extraits foliaires rééquilibrent les rations à base de grains. Ils améliorent la croissance et la résistance aux maladies. Chez les très jeunes enfants, ils permettent le développement normal du cerveau. Ils préservent ainsi leur capacité à mieux assimiler l'instruction et leur chance d'avoir une vie meilleure. De plus, ils constituent une alternative aux aliments d'origine animale ainsi qu'aux fruits et légumes, en général absents des régimes alimentaires des populations à faibles ressources financières car ils sont :

- \* D'une relative simplicité de fabrication, de logistique et d'emploi,
- \* D'un coût très faible : 30 F par enfant et par an (prix France),
- \* D'une capacité nutritionnelle exceptionnelle,
- \* D'une diffusion et d'une reproductibilité possible partout dans le monde,
- \* Ils s'appuient sur des ressources foliaires énormes et inépuisables.

Les extraits foliaires s'avèrent donc être un concept alimentaire nouveau et d'un grand intérêt pour l'homme. Ils mériteraient une attention particulière et une reconnaissance officielle des milieux médicaux et de la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL).

# I LA LUZERNE

*“La luzerne est la merveille des champs”,  
Théâtre de l’Agriculture et Mesnage des Champs, Olivier de Serre 1539-1619, jardinier du roi.*

## I 1 Origines et génétique

### I 1.1 Historique

La luzerne fut introduite en Europe vers 470 av. J.C., pendant les guerres médiques. Elle portait alors le nom de *Medica Herba* “l’herbe de Médie”, devenu plus tard le nom de genre : *Medicago*. Toutefois, les tablettes Hittites mentionnent déjà son utilisation, comme nourriture hivernale pour animaux, 1400 à 1200 ans av. J.C. La luzerne proviendrait donc des hauts plateaux du Caucase d’Iran et de Turquie, où elle était appelée *alfalfa* “le meilleur des fourrages”.

La luzerne apparaît en France au XVI<sup>ème</sup> siècle, mais c’est seulement au XVIII<sup>ème</sup> siècle qu’elle connut son plus grand développement, lorsqu’il fut démontré qu’elle remplaçait avantageusement la jachère et permettait l’enrichissement du sol en azote.

**A l’heure actuelle, la luzerne est la plante fourragère la plus cultivée dans le monde. Elle est notamment très répandue dans les zones tempérées chaudes, subtropicales et en altitude (Mauriès, 1994).**

### I 1.2 Génétique de la luzerne

**La luzerne est une légumineuse capable de fixer l’azote atmosphérique grâce à une symbiose établie avec une bactérie, au sein de son système racinaire.**

#### I 1.2.1 Espèces

Sous l’appellation luzerne, sont classées deux espèces botaniques et leurs hybrides (Mauriès, 1994) :

- *Medicago sativa* L. (caractérisée par des racines pivotantes pouvant aller jusqu’à 10 m de profondeur, elle est très adaptée aux climats chauds)
- *Medicago falcata* L. (plante très résistante au froid et peu exigeante au point de vue nutritionnel)
- *Varia* (hybrides)

#### I 1.2.2 Populations cultivées en France

En France, toutes les populations de luzerne sont constituées de *Medicago sativa* et d’hybrides (*Varia*) qui lui sont proches génétiquement. (Mauriès, 1994). On trouve, par exemple, les luzernes de type :

- **Provence** : Essentiellement constitué de *Medicago sativa*
- **Flamand** : Mélange de *Medicago sativa* et de *varia* (en forte proportion) utilisé en déshydratation dans les zones tempérées.

## I 2 Culture de la luzerne

La France constitue l'un des deux plus grands producteurs de luzerne en Europe. Elle utilise presque exclusivement des variétés améliorées (sélectionnées par la génétique) de type Flamand résistantes au *Verticillium* (maladie cryptogamique souvent cause de pertes importantes de rendement).

### I 2.1 Conditions environnantes

#### \* Le sol

**La luzerne est une plante exigeant beaucoup de calcium.** Pour un développement optimum, elle doit donc être implantée dans un sol sain et calcaire, à pH variant de 6 à 7,5. Par tonne de matière sèche produite, elle exporte 30 kg de potassium, 9 kg phosphore et 3 kg de magnésium. **Dans un sol normalement équilibré, seuls les apports de potassium sont nécessaires. L'apport d'azote est inutile** du fait de la capacité de la luzerne à utiliser l'azote atmosphérique et l'azote minéral contenu dans le sol. Son système racinaire est suffisamment important pour puiser et de valoriser les éléments nutritifs présents dans le sol.

#### \* La température

La croissance optimale des plantes se situe à des températures comprises entre 15 et 30 °C.

#### \* L'hydratation

La luzerne pousse dans des zones à pluviométrie équilibrée : le manque d'eau freine fortement le développement des plantules ; un excès d'eau favorise le développement des maladies fongiques et prive les racines d'oxygène.

#### \* La luminosité

En conditions non limitantes (bonne température et hygrométrie), la croissance dépend aussi directement du rayonnement visible intercepté au cours de la pousse.

### I 2.2 Croissance

La luzerne est une plante pérenne qui dure 2 à 10 ans selon son mode d'exploitation. Elle repousse après l'hiver ou après chaque coupe grâce aux réserves qu'elle constitue dans ses racines durant les périodes de végétation. Celles-ci durent jusqu'à 10 mois en Californie ou en Egypte où la luzerne est récoltée 8 à 10 fois par an (en terre irriguée). En Europe, elle pousse de Mars à Octobre avec, en moyenne, 4 coupes par an espacées de 35 à 45 jours selon la température. C'est une plante qui résiste très bien au gel. Durant les périodes de froid, elle entre en dormance. Au printemps, elle crée de nouvelles tiges à partir de son pivot central.

### I 2.3 Les traitements

**Ils sont extrêmement limités et effectués suivant les bonnes pratiques agricoles rappelées régulièrement par les organismes spécialisés et plus particulièrement par le Syndicat National des Déshydrateurs de France (période, produits phytosanitaires et doses autorisés...).**

- **Le désherbage** : Un seul traitement par an (et uniquement en cas d'invasion) est appliqué pour lutter contre les adventices. Il a lieu au début de l'hiver pour éviter la présence de résidus toxiques (lavage par les pluies) dans les légumineuses dont la repousse s'effectue à partir du mois de mars.

- **Lutte contre les insectes** : Les insecticides ne sont utilisés que dans les cas rares d'attaques par des apions (charançons). Ils sont appliqués, comme tous les traitements, au moins trois semaines avant la récolte. En fait, la fréquence des coupes permet de réduire d'autant les risques de contaminations. En pratique, une intervention chimique ne se produit qu'en cas d'extrême urgence tous les 3 à 5 ans.

Il est à noter que ces coupes répétées, tout en limitant les insectes, limitent aussi les adventices et dans une moindre mesure le développement des moisissures. D'autre part, d'énormes progrès ont été obtenus par la sélection avec des variétés résistantes à diverses attaques (verticilliose, nématodes...).

- **Le traitement des semences** : Il s'effectue uniquement lorsque nécessaire avec du bromure de méthyle pour lutter contre les nématodes.

## **I 2.4 Impact des cultures de luzerne sur l'environnement**

### **I 2.4.1 La luzerne, plante écologique**

La luzerne est l'une des plantes produisant le plus de protéines à l'hectare. Elle mobilise donc une grande quantité d'azote :

- Teneur en azote des racines : 1,8 % de la matière sèche (exprimé en N)
- Teneur en azote des parties aériennes : 3,5 % de la matière sèche.

La luzerne fixe l'azote atmosphérique mais elle utilise préférentiellement l'azote nitrique présent dans le sol : la concentration en azote nitrique du sol diminue d'année en année lors d'une culture de luzerne. La luzerne permet donc de récupérer et de soustraire au lessivage les surplus de nitrates présents dans le sol, protégeant ainsi les nappes phréatiques (**Muller et al.**, 1989).

### **I 2.4.2 Minéralisation**

L'azote libéré par les racines peut être utilisé pour la fertilisation des cultures suivantes. La luzerne constitue donc une plante écologique qui joue un rôle important pour l'environnement (**Muller et al.**, 1989).

## **I 3 Récolte et conservation de la luzerne**

Il existe plusieurs méthodes d'utilisation de la luzerne :

- **L'affouragement** : mode d'alimentation animale à base de luzerne fraîchement coupée.

- **Le pâturage** qui consiste à laisser paître les animaux librement. L'inconvénient majeur réside dans l'altération (piétinement, déracinement) des jeunes pousses de luzerne et dans le risque de météorisation des ruminants.



- *L'ensilage* : méthode de conservation anaérobie qui consiste à créer rapidement dans le silo une acidité suffisante pour bloquer la flore putréfiante. Elle nécessite une bonne maîtrise technique et des moyens matériels importants.

- *Le foin* constituant la plus grande partie des aliments distribués. Il exige cependant, une météorologie favorable : la pluie diminue la qualité de la récolte et peut même causer sa perte totale. De plus, on enregistre souvent une perte importante de feuilles lors de la récolte.

- *Le haylage et l'enrubannage* : méthodes récentes de conservation anaérobie.

Ces différentes méthodes ont l'inconvénient de laisser perdre une grande quantité d'éléments nutritifs. C'est pourquoi, un nouveau moyen de conservation par **la déshydratation artificielle et industrielle de la luzerne** a été développé en France après la guerre. **Cette technique consiste à sécher artificiellement la luzerne aussitôt sa récolte, à l'aide d'un séchoir rotatif à haute température (700 - 800 °C) puis à la conserver sous atmosphère inerte pour protéger les éléments les plus oxydables, notamment les pigments et les vitamines.**

La déshydratation présente de nombreux avantages :

- Elle améliore le rendement de la luzernière en évitant les pertes liées aux autres procédés de récolte.

- Elle permet de réaliser des récoltes en continu sans souci de pluviométrie et d'allonger les périodes de production.

- Elle permet d'approvisionner pendant toute l'année l'industrie de l'alimentation du bétail et de délocaliser cette consommation.

- Elle facilite l'intégration de la luzerne dans les formules modernes d'aliments composés destinés aux animaux.

- Elle permet de très bien préserver les qualités nutritionnelles de la luzerne, notamment en vitamines et carotène, du fait de son traitement immédiat après la récolte. Le phénomène de tannage des protéines par la chaleur les protège en partie de la dégradation par le rumen et améliore le coefficient de digestibilité des protéines ingérées par les ruminants.

- Elle limite les risques de moisissures et de dégradation lors du stockage.

Apparue en France dans les années 50, **la déshydratation de la luzerne** a connu un essor considérable ces dernières années. Elle **représente actuellement en France 110 000 ha, dont 80 % en Champagne-Ardenne** (production d'environ 12 à 15 tonnes de matière sèche / ha / an). Elle est commercialisée dans une gamme de conditionnements de plus en plus large (granulés plus ou moins gros, plus ou moins riches en protéines, en fibres et carotène ; luzerne déshydratée en brins longs...) destinée à une grande variété d'animaux (poules, lapins, moutons, porcs, bovins, chevaux...).

**Dans le but d'accroître le potentiel nutritif de la luzerne en alimentation animale, l'union des coopératives champenoises France Luzerne a eu l'idée en 1970 de faire précéder la déshydratation de la luzerne d'un processus d'extraction.** En 1975, après 3 années d'études, de recherches et la mise au point d'un atelier pilote expérimental, la première usine industrielle fut créée. Actuellement, trois usines seulement dans le monde appliquent le procédé. Elles produisent 12 000 tonnes de concentrés secs de luzerne et un co-produit de pressage représentant 92 % de la matière sèche d'origine, soit environ 140 000 tonnes destinées à l'alimentation des bovins et des lapins.

## II LE CONCENTRE DE LUZERNE

La luzerne est, parmi les légumineuses, la plante qui fournit le plus de protéines brutes à l'hectare : 2 000 à 3 000 kg, soit trois fois plus qu'une culture de soja, deux fois plus que le pois et quatre fois plus que le blé. Mais du fait de sa teneur en fibres peu digestibles par les monogastriques (cellulose, hémicellulose et lignine), la luzerne déshydratée ne peut entrer dans les formulations d'aliments composés de certains jeunes animaux à "haute performance" (poules, poulets, veaux, porcelets). C'est pourquoi **France Luzerne a mis au point un concentré protéique extrait de la luzerne, avant la déshydratation classique.**

**Le principe de cette concentration réside dans la thermocoagulation des protéines** (précipitation des protéines à haute température, schéma 1 page 12). Le produit obtenu possède une teneur en cellulose réduite à 1-2 %, il est riche en protéines (50 à 60 %), en oligo-éléments, en vitamines, en xanthophylles et en pigments caroténoïdes (**Gastineau et de Mathan, 1981**).

### II 1 Procédé industriel

Schéma récapitulatif présenté en page 12.

#### II 1.1 Broyage et pressage de la luzerne

Immédiatement après la récolte, la luzerne est broyée et pressée puissamment pour séparer une grande partie des éléments nutritionnels des fibres non digestibles. Exécutée rapidement, cette étape permet aussi de limiter l'hydrolyse des protéines cellulaires par les protéases. Les éléments nutritionnels, composés principalement de **protéines chloroplastiques et cytoplasmiques, de pigments et de vitamines, sont recueillis dans le jus vert.**

Le coproduit de ce jus vert, constitué par les parties ligneuses et cellulosiques des tiges et des feuilles, est séché et utilisé pour l'alimentation animale. Il contient encore beaucoup d'éléments nutritifs. Sa valeur nutritive globale se trouve de plus améliorée du fait de l'éclatement des parties cellulosiques des tiges (les nutriments sont libérés et la fibre elle-même est mieux digérée par les ferments cellulolytiques du rumen).

#### II 1.2 Thermocoagulation des protéines

Le jus vert, ajusté à pH 8,5 afin de ralentir l'action des phénoloxydases et d'améliorer la structure du coagulum, est préchauffé, puis porté à une température de 85-90°C par injection de vapeur. Ce chauffage provoque la coagulation de la plus grande partie des protéines qui entraînent avec elles les pigments, les vitamines liposolubles, les lipides et les minéraux.

### **II 1.3 Séparation du coagulum**

Une centrifugation sépare ensuite le coagulum (pâte humide verte contenant la plupart des nutriments) du reste de la solution (sérum brun).

Ce coagulum contient plus de 50 % de matière azotée totale (MAT) dont 80 % de protéines pures, accompagnées de quelques acides aminés libres ou de peptides. La thermocoagulation permet d'extraire en moyenne 8 % de la matière sèche et 20 à 25 % des protéines totales d'origine.

### **II 1.4 Séchage et stockage**

Le coagulum, devenu pâteux, après avoir été séparé mécaniquement de la plus grande partie du sérum brun, est séché sur lit fluidisé. Jusqu'à ce stade, la fabrication des concentrés à destination animale ou humaine est identique.

Par la suite, le PX1 (nom commercial du concentré destiné à l'alimentation animale) est granulé et stocké en cellules étanches sous gaz inerte, en attente d'expédition.

Pour l'alimentation humaine, le produit appelé Extrait Foliaire est émiétté. Les miettes, contenant en moyenne 8 % d'humidité, doivent être conservées au sec, à l'abri de l'air, d'une trop grande chaleur et de la lumière. C'est pourquoi, les extraits foliaires sont ensachés hermétiquement aussitôt leur fabrication.

Notons que pour protéger les vitamines et les pigments, un antioxydant est utilisé :

- L'éthoxyquine (150 mg/kg) pour l'alimentation animale,
- L'acide ascorbique (500 mg/kg) pour la consommation humaine.

### **II 1.5 Utilisation des coproduits**

Le sérum brun contenant encore 13 à 15 % de la matière sèche d'origine (azote soluble, sels minéraux et sucres principalement) est mélangé aux résidus fibreux. L'ensemble est séché dans un tambour rotatif, par flux d'air à haute température. Le coproduit ainsi obtenu est broyé, granulé puis stocké avant commercialisation. Il contient 16 à 20 % de protéines, 25 à 30 % de cellulose et 100 à 150 mg de carotène par kg. Il constitue un excellent aliment pour les bovins et les lapins.

Pour la rentabilité de cette industrie, la valorisation des deux produits (extraits protéiques et coproduits représentant respectivement 8% et 92 % de la matière sèche d'origine) est indispensable.

### **II 1.6 Homogénéité de l'extrait foliaire**

La matière protéique totale de l'extrait foliaire varie peu : de 50 à 60 % alors que la composition en protéines de la luzerne venant des champs varie de 15 à 25 % selon la coupe et le stade végétatif. Ainsi, la différence de qualité du végétal traité se traduit par une quantité d'extrait foliaire variant de 6 à 12 % de la matière sèche d'origine avec une moyenne de 8 %.

## II 2 Procédé artisanal

Schéma récapitulatif présenté en page 12.

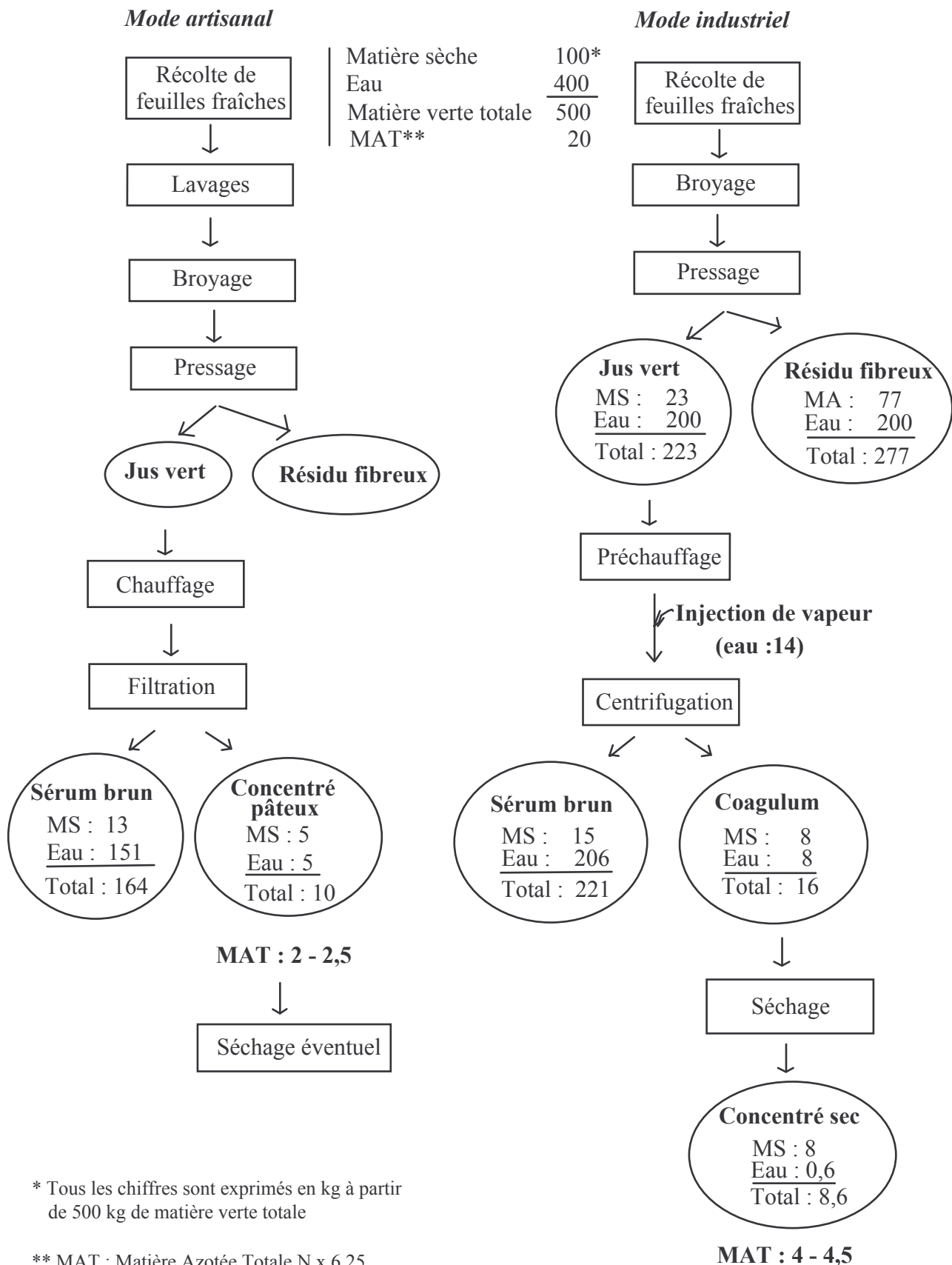
A coté de ce procédé industriel, il existe un procédé artisanal utilisant des méthodes très simplifiées et applicables dans les pays en développement. Mis en application dans plusieurs pays du tiers-monde, ce procédé est également fondé sur le principe de thermocoagulation des protéines.

Exemple de la méthode appliquée au Nicaragua par l'association SOYNICA :

- \* La luzerne est lavée dans une eau parfaitement saine, aussitôt la récolte.
- \* Elle est ensuite broyée (broyeur vertical ou horizontal) puis pressée à l'aide de moyens simples et peu coûteux, susceptibles d'être mis en place dans ces pays par des artisans astucieux.
- \* Le jus vert contenant les protéines est porté à ébullition quelques minutes.
- \* Le surnageant (protéines coagulées) est écrémé puis pressé (élimination de l'eau).
- \* La pâte humide obtenue peut alors être consommée directement, ou être séchée, émiettée et conservée dans des boîtes opaques hermétiquement fermées. Le coproduit fibreux peut être utilisé humide par les animaux ou séché au soleil pour une utilisation ultérieure ; le jus brun peut être donné en boisson aux animaux ou utilisé comme fertilisant.

Comparativement, la quantité de protéines recueillies artisanalement est légèrement inférieure à celle produite industriellement (5 % environ). Le pressage artisanal est en effet beaucoup moins efficace. L'extrait protéique industriel est également plus sec. Cependant, ce procédé artisanal a l'avantage de pouvoir être installé très facilement dans des villages possédant suffisamment de surfaces cultivées et de ressources en eau.

**Schéma 1 : Procédé de fabrication du concentré foliaire de luzerne et Fractionnement de la luzerne fraîche (exemple à partir du produit vert à 20 % de matière sèche)**



\* Tous les chiffres sont exprimés en kg à partir de 500 kg de matière verte totale

\*\* MAT : Matière Azotée Totale N x 6,25

### III UTILISATION EN ALIMENTATION ANIMALE

Le procédé d'extraction des protéines de luzerne a été mis au point, sur pilote industriel, par des chercheurs américains, **Kohler et Bicckof**, à l'USDA (Albany, Californie). En 1972, France Luzerne acquit les brevets et pu commencer l'exploitation industrielle du concentré de luzerne dès 1975. Ces extraits foliaires, nommés PX1, sont utilisés en France, depuis cette date et sont destinés à des espèces animales très ciblées. Ils sont nutritionnellement efficaces pour les animaux monogastriques tel que le porc, du fait de leur faible teneur en fibres non digestibles et de leur grande richesse en protéines, vitamines et pigments. Ils sont aussi très bien valorisés par les volailles pour leur capacité pigmentaire (coloration des poulets à chair jaune, coloration du jaune des oeufs).

Dans le cadre des recherches sur les compléments alimentaires, ces extraits foliaires ont fait l'objet de nombreuses études à la Station de Recherche sur l'Élevage des Porcs de l'INRA de Jouy en Josas. Ainsi, les porcs consommant 6 à 8 grammes de concentré de luzerne par jour et par kg de poids vif, voient leur croissance favorisée. Il semble aussi que l'extrait (du fait de sa faible teneur en fibres) présente une très bonne digestibilité de sa fraction protéique (84 %) et que la consommation de concentré de luzerne permette de diminuer la pollution fécale car, pour une même quantité de protéines absorbées, l'animal ingère un peu moins d'azote.

**Bourdon et al** (1980) mettent aussi en évidence que le PX1 représente, au sein d'un régime à base de blé, un supplément protéique très intéressant chez le porc en croissance. L'estimation de sa valeur énergétique montre que le PX1, introduit à 10 ou 20 % de la ration alimentaire, représente une énergie digestible de 3 735 kcal /kg de matière sèche (4 000 kcal/kg de MS pour le soja) et une énergie métabolisable de 3 322 kcal/kg de matière sèche (3 750 kcal/kg de MS pour le soja). Le coefficient d'utilisation digestible apparente de l'énergie (72,7 %) est très encourageant bien que légèrement inférieur (de moins 7%) à celui du tourteau de soja. Ainsi, l'extrait foliaire de luzerne, associé au blé, représente un supplément protéique idéal pour la croissance des porcs en remplacement partiel ou total du tourteau de soja. Il en est de même pour l'association maïs - PX1. Malheureusement, dans les conditions économiques actuelles, le PX1 n'est pas valorisable par le porc.

Enfin, lors de toutes ces études (**Bourdon et al**, 1980, **INRA** de Jouy en Josas) aucun phénomène de photosensibilisation et aucun accident (de type locomoteur, pneumonie, diarrhée ou prolapsus du rectum) n'ont été observés contrairement à ce qui avait été signalé par des chercheurs néo-zélandais en 1974 (**Carr et Pearson**) et américains en 1975 (**Myer et Cheeke**).

En 1975 France Luzerne avait été contacté par des chercheurs anglais de l'association Leaf For Life qui essayaient, en Inde, de compléter les rations alimentaires avec des extraits foliaires de végétaux verts locaux et qui souhaitent tester le concentré de luzerne. L'importante richesse des extraits foliaires en protéines, acides aminés essentiels, acides gras polyinsaturés, vitamines, oligo-éléments et les bons résultats obtenus en alimentation animale permettaient, en effet, d'envisager leur utilisation comme suppléments nutritionnels par les populations fréquemment carencées des pays en voie de développement. Afin d'appréhender plus précisément son intérêt en alimentation humaine, la composition nutritionnelle du concentré foliaire de luzerne est développée dans le chapitre suivant.

## IV COMPOSITION DU CONCENTRE FOLIAIRE DE LUZERNE

### IV 1 Composition nutritionnelle

Le concentré de feuilles de luzerne est un aliment intéressant au point de vue nutritionnel de par sa forte teneur en protéines, vitamines et oligo-éléments (Tableau 1).

Composition	Teneurs (en g pour 100 gr)
Humidité	8
Matières azotées totales N x 6,25	50 à 60
Matières grasses	9 à 10
Glucides	6
Fibres	< 2
Matières minérales	13 à 14
Vitamines	0, 09

Tableau 1 : Composition de l'extrait foliaire de luzerne (Document interne France Luzerne).

Les analyses quantitatives et qualitatives de l'extrait foliaire sont régulièrement effectuées sur les produits finis, dans les laboratoires de France Luzerne, sous la direction de Mr **Seiler**, avant leur entrée en stockage et pour chaque lot de 25 tonnes. Ainsi, 30 000 échantillons sont prélevés chaque année soit environ 130 000 analyses réalisées (Méthodes de dosage en Annexe 2).

#### IV 1.1 Composition en protéines et acides aminés

Les protéines apportées par l'alimentation sont indispensables pour assurer le renouvellement des acides aminés nécessaires à la synthèse des protéines structurales (constituant des cellules) et fonctionnelles des cellules de l'organisme (enzymes, hormones, hémoglobine...). Les extraits foliaires de luzerne contiennent entre 50 et 60 % de matière azotée totale (MAT N x 6,25). Environ 80 % de ces protéines sont des protéines vraies, le reste est constitué d'acides aminés libres, de peptides, de bases azotées et de traces de nitrates.

La protéine la plus abondante est une protéine chloroplastique soluble de 500 kDa : la rubisco (ribulose-1,5 biphosphate carboxylase-oxygénase). De nombreuses autres protéines solubles à fonction enzymatique sont également présentes mais en moindre proportion. Enfin l'extrait contient aussi des protéines membranaires (masse moléculaire comprise entre 20 et 110 kDa) et des polypeptides issus de l'hydrolyse des protéines lourdes.

La composition en acides aminés de l'extrait foliaire est donnée dans le Tableau 2 page suivante (Documentation interne France Luzerne, INRA).

On distingue trois catégories d'acides aminés :

\* Les acides aminés « non essentiels » (AANE) qui sont synthétisés directement par l'organisme animal.

\* Les acides aminés « semi-essentiels » (AASE) synthétisés par l'organisme uniquement lorsque la quantité de leur précurseur est suffisante. Il s'agit de la cystéine et de la tyrosine.

\* Les acides aminés « essentiels » (AAE). Ils sont au nombre de huit (Tableau 2) et ne peuvent être synthétisés à partir d'autres acides aminés ou nutriments. Ils doivent donc être impérativement apportés par l'alimentation sous peine de carences graves (retard de croissance, fonte musculaire, anémie, moindre résistance aux infections ...).

Acides aminés	Oeuf Indice de référence ( en g %) #	Blé panifiable Indice de référence (en g %) ##	Extrait Foliaire (EF) de luzerne (en g %)	Teneurs pour une posologie de 10 gr (en mg)
Glycine	3,4	4,1	4,8 à 6,3	
Alanine	5,6	3,4	5,9 à 7,1	
Valine*	5,6	4,4	5,8 à 6,7	308
Leucine*	8,1	6,9	8,5 à 10,6	443
Isoleucine*	4,8	3,5	4,3 à 6,7	242
Méthionine*	3,4	1,6	1,5 à 2,6	112
Cystéine**	2,7	2,4	0,6 à 3	59
Phénylalanine*	6,5	5	5,8 à 7	250
Tryptophane*	1,7	1,2	1,6 à 3,4	100
Proline	3,5	10	4,4 à 5,7	
Sérine	7,3	5,2	4,1 à 5,6	
Thréonine*	5,1	3	4,6 à 5,8	239
Tyrosine**	4,1	3,2	3,7 à 5,2	242
Acide aspartique	10,5	5	9,3 à 10,7	
Acide glutamique	12,4	31	10,6 à 12,5	
Lysine*	6,7	2,7	5,6 à 7,4	321
Arginine	6,1	5,1	4,4 à 4,6	
Histidine	2,5	2,3	1,8 à 2,5	

**Tableau 2 : Pourcentages d'acides aminés contenus dans l'extrait foliaire (France Luzerne).**

\*AAE, \*\*AASE, # données de l'INRA, ## données de l'INAPG.

Les valeurs sont données en g pour 100 g de protéines (oeuf et blé) et pour 100 g d'acides aminés (EF).

Globalement, les acides aminés essentiels et semi-essentiels représentent 50 % de la totalité des acides aminés du concentré foliaire. Ils constituent donc un apport important pour l'alimentation humaine.

Cependant, peu de mesures de digestibilité des acides aminés et des protéines foliaires ont été entreprises. Or nous savons que certains constituants, comme les polyphénols, les tanins, les fibres limitent la digestibilité et l'assimilation des protéines végétales.

Pourtant la valeur biologique des légumineuses, caractérisée par leur aptitude à être plus ou moins bien assimilées et à favoriser la synthèse des autres acides aminés, se situe entre 70 et 85 %. De plus, deux aliments déficitaires en un acide aminé indispensable peuvent se compléter en s'associant, à condition que les facteurs limitants soient différents. Cette association peut non



seulement combler les déficits, mais aussi potentialiser la valeur biologique des protéines considérées, réalisant un apport parfois supérieur à celui des meilleures protéines animales. Par exemple, l'association légumineuses - céréales complètes (limitées par la lysine et par le tryptophane pour le maïs) augmente la valeur biologique des protéines de 30 à 50 %.

C'est pourquoi, l'association céréales - graines de légumineuses se trouve être à la base de nombreuses traditions alimentaires (France : pain + soupe aux haricots, lentilles ou fèves ; Italie : pâtes + haricots ; Maghreb : coucous + pois chiche ; Japon : Riz + sauce de soja ...). Pour une bonne santé, il est important de diversifier les végétaux afin d'assurer un apport protéique équilibré. En fait, la ration protéique la mieux adaptée au métabolisme humain (compte tenu des notions d'acides aminés essentiels, des facteurs limitants et des déchets) se compose aux 2/3 de légumineuses, de céréales complètes, de fruits oléagineux, d'oeufs et de produits laitiers et en moindre proportion (1/3) de poissons et de viandes (**Le Goff**, 1997).

## IV 1.2 Les lipides

L'extrait de luzerne contient en moyenne 8 à 12 % de lipides sous forme d'acides gras, de glycérides, de pigments, de stérols et de quinones liposolubles provenant essentiellement des lamelles chloroplastiques. Les lipides sont très importants pour l'organisme puisqu'ils participent à l'élaboration d'hormones, de prostaglandines et sont aussi indispensables à l'absorption de certaines vitamines liposolubles (A, D et E et K) d'origine alimentaire (**Douillard**, 1981 ; **Le Goff**, 1997).

### IV 1.2.1 Acides gras

Au sein de l'organisme, on distingue plusieurs types d'acides gras :

\* **Les acides gras saturés**, qui jouent un rôle fondamental dans la structure membranaire des cellules du système nerveux central. Leurs apports sont impératifs chez l'enfant et la femme enceinte. Dans le concentré de luzerne on trouve principalement l'acide palmitique et l'acide stéarique représentant respectivement 25 % et 5 % des acides gras totaux.

\* **Les acides gras insaturés** qui existent sous deux formes :

\* Les monoinsaturés, tels que l'acide oléique. Ce dernier a un rôle très bénéfique sur les facteurs de coagulation et dans la prévention des maladies cardio-vasculaires en raison de son action anti-athérogène. Dans l'extrait foliaire, il constitue 8 % de la totalité des lipides.

\* Les polyinsaturés qui facilitent les réactions métaboliques dans lesquelles ils interviennent. Certains acides gras polyinsaturés, tels les acides linoléique et linolénique, doivent impérativement être apportés par l'alimentation car ils ne peuvent être synthétisés par l'organisme. Ces deux composés sont des précurseurs de 2 séries métaboliques importantes (respectivement série Oméga 6 et Oméga 3). La physiologie de l'homme dépend de l'équilibre entre ces deux acides gras essentiels aux actions antagonistes et complémentaires. Toutefois, il faut aussi savoir qu'un excès d'acide gras polyinsaturé peut parfois être nuisible. Ces composés sont en effet facilement oxydés par des cations métalliques ou des metalloprotéines. Cette oxydation donne naissance à des radicaux libres et des peroxydes qui pourront être toxiques pour les membranes cellulaires.

Outre les effets sur le système cardio-vasculaire et les réactions inflammatoires, tous ces acides gras agissent sur la perméabilité des membranes cellulaires, la transmission de l'influx nerveux, le métabolisme des hormones surrénaliennes, la fertilité masculine (Le Goff, 1997). Ils sont donc d'une grande importance pour la physiologie animale et humaine.

#### *IV 1.2.2 Les pigments*

Les principaux pigments rencontrés sont les chlorophylles (environ 1 %), donnant la couleur verte à l'extrait protéique, et les caroténoïdes (2 à 3 g/kg). Parmi ces derniers, on trouve essentiellement du bêta-carotène ou provitamine A (0,5 à 1 g/kg) et des xanthophylles, lutéine (600 mg), zéaxanthine (200 mg), violaxanthine et néoxanthine (200 mg). Ces molécules peuvent être libres ou associées à des protéines.

La stabilité des caroténoïdes dans les protéines vertes est beaucoup plus importante que dans la plante déshydratée, bien que la déshydratation artificielle de la luzerne améliore déjà considérablement la stabilité des pigments. (Abely, 1995).

#### *IV 1.2.3 Les stérols*

Les stérols sont peu abondants. On trouve principalement le cholestérol et le bétasitostérol. Ce dernier présent dans les lamelles chloroplastiques joue un rôle hypocholestérolémiant : il diminue l'absorption intestinale du cholestérol et par la même, le taux de cholestérol dans le sang.

#### *IV 1.2.4 Les quinones*

Les quinones les plus abondantes sont l'ubiquinone, l'alphatocophérol (précurseur de la vitamine E) et la phylloquinone (vitamine K). Elles ne représentent toutefois que 0,03 à 0,05 % des nutriments (Tableau 3, page 16).

### **IV 1.3 Les hydrates de carbone**

Les sucres constituent la principale et la plus économique source d'énergie pour l'organisme. Cette consommation d'énergie sous forme de glucose est quasi constante et nécessite un apport régulier de glucides par l'alimentation.

Seuls les sucres simples (oses) sont assimilables directement par l'organisme. Les sucres complexes (osides et hétérosides) sont dégradés progressivement grâce à des éléments catalytiques présents dans le végétal originel (vitamines, oligo-éléments, enzymes). Ainsi mis à disposition du corps, ils sont répartis dans le temps pour assurer un apport énergétique régulier à condition d'être accompagnés de fibres alimentaires.

La ration glucidique représente environ 60 % de l'apport énergétique d'une alimentation équilibrée. Elle se compose principalement de sucres complexes (notamment l'amidon contenu en grande proportion dans les céréales et les graines de légumineuses) et de 40 % de sucres simples (Le Goff, 1997). Dans l'extrait foliaire, les glucides existent sous ces deux formes :

- Sucres simples : glucose (0,8 %),
- Sucres complexes : saccharose (0,3 %) et stachyose (0,1 %), glucosanes (3,2 %), pentosanes (2 %), galactanes (2,7 %) et mannanes (0,1 %).

Globalement, ces sucres représentent 6% des composés de l'extrait foliaire (documentation interne France Luzerne). Pris en complément nutritionnel suivant la posologie recommandée (6 à 15 g par jour), cet extrait peut donc contribuer à équilibrer la glycémie.

#### **IV 1.4 Les fibres**

L'extrait de luzerne contient moins de 2 % de fibres sous forme de cellulose, d'hémicellulose, d'oses polymérisés et de lignine (documentation interne France Luzerne). Ce faible taux de fibres permet la concentration des composants utiles (vitamines, minéraux..) et améliore leur assimilation dans le tube digestif. Les fibres nécessaires au bon fonctionnement du bol fécal sont, quant à elles, facilement apportées par les céréales plus ou moins complètes habituellement consommées.

#### **IV 1.5 Les vitamines**

Les vitamines, comme les minéraux, conditionnent la bonne assimilation, puis la bonne utilisation des aliments. Leur fonction catalytique les fait intervenir sur l'ensemble des réactions biochimiques de l'organisme. Elles sont subdivisées en deux groupes selon leur solubilité :

- Vitamines solubles dans les corps gras ou liposolubles (A, D, E, K),
- Vitamines hydrosolubles (B, C et P) qui sont facilement éliminées et doivent être apportées régulièrement par l'alimentation.

La luzerne constitue une source importante de  $\beta$  carotène (précurseur de la vitamine A) mais aussi d'autres vitamines telles que les vitamines E, K et B9. Chacun de ces éléments assurent des fonctions spécifiques et très importantes au sein de l'organisme (Tableau 3, page suivante).

On trouve également dans l'extrait de luzerne de la choline chlorhydrate à un taux de 6,4 mg pour 10 g de concentré. L'importance de ce composé mériterait une étude plus approfondie.

Composés	Fonction*	Besoins journaliers*	Teneur de 10 g d'EF de luzerne**
béta - carotène ou Provitamine A	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Synthèse du pigment rétinien</li> <li>- Activité cellulaire (division, perméabilité, tonicité)</li> <li>- Activité antioxydante</li> <li>- Anti-infectieuse</li> <li>- Anti-athéromateuse</li> <li>- Aide à la fonction de détoxification du foie</li> </ul>	Enf 1-3 ans : 400 µg ER Enf 4- 9 ans : 600 µg ER Adolescents : 800 µg ER Adultes : 800 à 1300 µg ER  ER (Equivalent Rétinol)	920 µg ER
Vitamine E	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Anti-oxydante</li> <li>- Fécondité</li> <li>- Réduit les besoins en oxygène</li> <li>- Nutrition des tissus conjonctifs, musculaires et cutanés</li> <li>- S'oppose à la destruction des globules rouges</li> </ul>	Enf de 1 à 3 ans : 5 mg Enf de 4 à 9 ans : 7 mg Adolescents : 10 mg Adultes : 12 mg	3 mg
Vitamine K	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Anti-hémorragique (active la synthèse par le foie des facteurs de coagulation)</li> </ul>	Enf de 1 à 3 ans : 15 µg Enf de 4 à 9 ans : 25 µg Adolescents : 35 µg Adultes : de 35 à 55 µg	300 µg
Vitamine B9 ou acide folique	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Complémentaire de la vitamine B12</li> <li>- Synthèse de l'hémoglobine</li> </ul>	Enf de 1 à 3 ans : 100 µg Enf de 4-12 ans : 200 µg Adolescents : 300 µg Adultes : de 300 à 500 µg	30 µg

**Tableau 3 : Teneurs et caractéristiques des principaux composés vitaminiques contenus dans le concentré de luzerne (\* CNRS, CNERNA, 1992, \*\* Données de l'APEF).**

#### IV 1.6 Matières minérales

Les matières minérales contenues dans l'extrait foliaire représentent en moyenne 13 à 14 % de la matière sèche. Elles sont en grande partie solubles dans l'eau et peuvent être partiellement éliminées par lavage acide (pH 3-4) (Analyses faites par l'INRA ; documentation interne France Luzerne).

Les différents minéraux présents sont portés dans le tableau 4, page 20. Ils participent activement à de nombreux métabolismes et à la formation des tissus. Le rôle de chaque élément n'est pas encore très bien défini : les uns sont uniquement catalytiques, d'autres ont un rôle mixte, plastique (structure des tissus) et catalytique. Il faut aussi signaler que certains acides de végétaux provoquent avec les minéraux des sels insolubles qui les rendent non assimilables (cas de l'acide oxalique de certains légumes feuilles et de l'acide phytique des céréales).

Tous ces éléments présentent des propriétés fonctionnelles importantes. Ils ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent donc être apportés par l'alimentation.

<b>Élément minéral</b>	<b>Fonction</b>	<b>Besoins journaliers*</b>	<b>10 g d'EF apportent**</b>
Calcium (Ca)	-Rôle plastique (os et dent) et catalyseur (coagulation du sang)	Enf 1-9 ans : 600 à 700 mg Adultes : 900 mg Adols, personnes âgées, mères allaitantes : 1200 mg	320 mg
Phosphore (P) non phytique	- Rôle plastique (os et dents, membrane cellulaire et métabolisme des graisses) et catalyseur (phosphorylation)	Enf 1-9 ans : 500 à 600 mg Adultes : 800 mg Adols, personnes âgées, mères allaitantes : 1000 mg	70 mg
Potassium (K)	- Principal cation intracellulaire - Intervient dans l'équilibre acido-basique - Rôle dans la conduction nerveuse	1000 à 2000 mg	70 mg
Sodium (Na)	- Principal cation extracellulaire - Rôle antagoniste et complémentaire du K	3000 à 5000 mg	0,5 mg
Magnésium (Mg)	- Rôle plastique (os, muscles) - Rôle énergétique (active l'ATP) - Active de nombreuses enzymes	Enf 1-9 ans : 120 à 180 mg Adultes : 330 à 420 mg Adols, personnes âgées, mères allaitantes : 330 à 480 mg	13 mg
Fer (Fe)	- Rôle plastique pour l'hémoglobine - Ion essentiel à la respiration - Anti-infectieux	Enf 1-9 ans : 10 mg Adultes : 10 à 18 mg Adols, personnes âgées, mères allaitantes : 10 à 18 mg	7 mg
Zinc (Zn)	- Rôle plastique (phanères, peau, os) - Catalyseur polyvalent	Enf 1-9 ans : 10 mg Adols, Adultes : 12 à 19 mg	200 µg
Manganèse (Mn)	- Oxydoréducteur énergétique - Antioxydant, anti-allergique, anti-infectieux - Minéralisation osseuse	Enf 1-9 ans : 1 à 2 mg Adultes, adols, personnes âgées, mères allaitantes : 4 mg	600 µg
Cuivre (Cu)	- Respiration cellulaire - Synthèse de l'hémoglobine et de la vit C - Anti-infectieux, anti-inflammatoire	Enf 1-9 ans : 1 à 1,5 mg Adultes, adols, pers. âgées, mères allaitantes : 2 à 3 mg	78 µg
Cobalt (Co)	-Contrôle la synthèse de la vitamine B12 - Antispasmodique et sédatif neurovégétatif	2 µg	10 µg
Iode (I)	- Hormones thyroïdiennes (activation de tous les métabolismes)	Enf 1-9 ans : 70 à 120 µg Adultes, adols, pers. âgées, fem. allaitantes : 150 à 200 µg	3 µg
Sélénium (Se)	- Antioxydant - Anti-inflammatoire - Stimule l'immunité	Enf 1-9 ans : 20 à 30 µg Adultes, adols, pers; âgées, fem. allaitantes : 55 à 75 µg	0,5 à 1 µg

**Tableau 4 : Fonctions et teneurs des matières minérales contenues dans les extraits foliaires de luzerne**  
(\* CNRS, CNERNA, 1992, \*\*Document interne France Luzerne).

#### IV 1.7 Valeur énergétique

Valeur énergétique brute : 4 700 kcal/kg

Valeur énergétique métabolisable par les volailles : 2 600 kcal/kg

Valeur énergétique métabolisable par les porcs : 3 700 kcal/kg

#### IV 1.8 Etude de la variabilité des résultats

Une étude faite en 1996 à la demande de l'Association pour la Promotion des Extraits Foliaires a porté sur la variation de la composition des extraits secs de luzerne en fonction des années (Tableau 5).

	1992	1993	1994	1995	1996
Humidité (g/kg)	92,1	81,4	88,2	89,1	85,9
Protéines N x 6.25 (g/kg)	526	553	550,1	554,5	563,5
Cellulose (g/kg)	23,5	16,8	17	13,3	10,1
Matières grasses (g/kg)	74,6	108,6	129,8	90,3	108,2
Cendres brutes (g/kg)	106,3	96,9	80,9	112,1	106,4
Beta-carotène (mg/kg)	100,36	71,55	103,97	145,87	603,77
Xanthophylles assimilables (mg/kg)	704,74	631,84	743,68	781,53	1727,5
Phosphore (g/kg)	8,43	6,93	7,34	8,09	8,32
Calcium (g/kg)	33,92	31,53	25,7	35,78	33,8
Magnésium (g/kg)	1,52	1,25	1,47	1,39	1,45
Potassium (g/kg)	9,81	6,47	9,06	7,29	6,6
Sodium (g/kg)	0,06	0,03	0,07	0,02	0,05
Fer (mg/kg)	507,02	595,75	435,38	754,79	623,4
Manganèse (mg/kg)	57,18	64,89	54,17	65,57	67,1
Cuivre (mg/kg)	6,67	8,1	7,88	7,48	7,8
Zinc (mg/kg)	17,15	16,21	36,44	16,85	14,6

**Tableau 5 : Etude comparative de la composition des différents extraits de luzerne produits de 1992 à 1996. Teneurs résiduelles dans la matière sèche de sacs ouverts (Laboratoire de France Luzerne 1997).**

Les échantillons ont été prélevés dans le reste des **sacs ouverts** entamés l'année indiquée. Chaque extrait provient des coupes réalisées en août, septembre ou octobre 1992 à 1996 (documentation interne France Luzerne).

Il apparaît que **les pourcentages de protéines, de xanthophylles et de bêta-carotène** contenus dans les extraits foliaires **augmentent** d'année en année. A l'inverse, **le taux de cellulose diminue progressivement**. Ceci certainement grâce à l'optimisation de toute la chaîne de fabrication. Les autres composés présentent un taux relativement stable dans le temps sauf les

caroténoïdes. Pour ces derniers, une variation naturelle au cours du temps est observée du fait de leur oxydation à l'air. Pour cette raison, un antioxydant (généralement de l'acide ascorbique) est ajouté en cours de fabrication. Rappelons toutefois que les résultats présentés dans le tableau 5 correspondent à des prélèvements sur sacs ouverts et que l'oxydation est moindre pour des sacs fermés.

## **IV 2 Toxiques et facteurs anti-nutritionnels**

Les analyses des facteurs antinutritionnels font l'objet d'un programme de recherches mené par France Luzerne avec les conseils du Centre d'Analyse et de Valorisation Industrielle des Substrats Agricoles (CAVISA) de Reims (M<sup>me</sup> **Hennequin**).

### **IV 2.1 Analyses de métaux lourds et de résidus de pesticides**

Aucun des résultats d'analyses effectuées sur les extraits de luzerne de France Luzerne n'a dépassé les seuils de détection existant pour les composés toxiques tels que les métaux lourds, les résidus de pesticides, etc. En fait, la fabrication d'extrait de luzerne s'effectue avec de la luzerne ayant subi au maximum un traitement chimique (un herbicide et rarement un insecticide) avant la période de végétation. L'épandage des boues et composts de villes (souvent vecteurs de métaux lourds) est par ailleurs interdit. Les seuls composés antinutritionnels susceptibles d'être présents, sont synthétisés naturellement par la plante : saponines, polyphénols et facteurs antitrypsiques de nature protéique sur les produits non chauffés. Or, lors du procédé de fabrication, l'extrait foliaire est chauffé à plus de 90 °C.

### **IV 2.2 Analyses de composés naturels antinutritionnels**

Certains composés produits naturellement par la plante peuvent présenter des effets négatifs dans le cas d'une consommation journalière importante. Or les rations d'extraits foliaires distribuées aux animaux (6 à 8 g/jour/kg de poids vif, **Bourdon et al.**, 1980) et les apports recommandés pour l'homme (0,6 g/jour/kg de poids vif pour les enfants et 0,15 à 0,3 g/jour/kg de poids vif pour les adultes) sont très faibles.

#### ***IV 2.2.1 Les saponines***

Certaines saponines à acide médicagénique (triterpène glycosylé) ralentissent parfois la croissance des jeunes animaux en formant, avec le cholestérol, un complexe qui va limiter son assimilation. Ce phénomène a été observé chez le rat et les volailles, mais pas chez le porc (France Luzerne ; INRA).

Dans l'extrait foliaire, le taux de saponine (stéroïdes et triterpènes) mesuré ne dépasse pas 1 % (0,7 à 0,9 pour 100 g de produit brut) et varie très peu en fonction de l'origine génétique des luzernes.

#### ***IV 2.2.2 Les polyphénols***

Les polyphénols sont des composés chimiques très réactifs qui peuvent être à l'origine de plusieurs effets indésirables :

- Diminution de l'absorption du fer
- Effets oestrogéniques des coumestanes (0,14 à 0,43 %) ou d'isoflavones (0,7 à 2 %).
- Diminution de la digestibilité des protéines. Les polyphénols sont en effet connus pour réagir et créer des liaisons fortes (covalentes) avec les groupements  $\epsilon$ -aminés des lysines.

En fait, seules des traces d'acide chlorogénique, fortement lié à des protéines de faible masse moléculaire, peuvent être observées (Abely, 1995).

#### **IV 2.3 Analyse d'autres facteurs toxiques**

Une recherche bactériologique, mycologique et d'aflatoxines de métaux lourds a été effectuée à l'Institut Européen de l'Environnement de Bordeaux (IEEB, laboratoire d'hygiène et santé) sur des échantillons de PX semoule en 1993. Une autre série d'analyses portant sur 3 échantillons vient d'être réalisée par l'Institut Européen de l'Environnement de Bordeaux et par l'Institut d'Hygiène et de Recherche en Santé Publique de Nancy. Les résultats globaux sont présentés dans le tableau 6, page 24.

#### **IV 2.4 Les extraits foliaires des autres végétaux**

De nombreux scientifiques ont remarqué que beaucoup de végétaux (trèfle d'Alexandrie, haricot niébé, mungo, sésame, amarante...) présentaient des caractéristiques similaires à celles de la luzerne, notamment en ce qui concerne les teneurs en protéines, acides aminés, vitamines et oligo-éléments.

Ainsi, depuis de nombreuses années, l'association caritative anglaise Leaf For Life a utilisé le haut potentiel représenté par les extraits foliaires de végétaux verts locaux et parfois de la luzerne pour lutter contre la dénutrition. Utilisant un procédé artisanal simple et peu coûteux, Leaf For Life a ainsi constaté une nette amélioration de santé chez les enfants et aussi chez les adultes subissant les troubles liés à la malnutrition (apathie, anémie, troubles respiratoires, digestifs et neurovégétatifs).

De par ses grandes qualités nutritives et hygiéniques, l'extrait foliaire de luzerne (pris en tant que supplément alimentaire et notamment associé aux céréales) peut donc présenter un intérêt considérable pour la santé humaine.



Campagne Référence France Luzerne	1993	1997-1998 231CX	1997-1998 236CX	1996-1997 PX1996
Durée de stockage		1 mois	3 mois	1 an
<b>Aflatoxines (mg/kg)*</b>				
Aflatoxines B1	< 0,001	< seuil	< seuil	< seuil
Aflatoxines B2		< seuil	< seuil	< seuil
Aflatoxines G1		< seuil	< seuil	< seuil
Aflatoxines G2		< seuil	< seuil	< seuil
<b>Bactériologie **</b>				
Flore aérobie mésophile (UCF/g)		3050	7950	6000
Coliformes totaux (UCF/g)		0	0	0
Coliformes fécaux (UCF/g)		0	0	0
Salmonella sp (UCF/g)		0	0	0
Staphylocoques présumés pathogènes (UCF/g)		0	0	0
Spores de Clostridium sulfito-réducteurs (UCF/g)		20	35	75
<b>Mycologie* (numérotation mesurée dans 1g)</b>				
Moisissures et levures sur milieux gélosés	3 700			
Aspergillus gr. glaucus	3 000			
Aspergillus versicolor	3 000			
Aspergillus candidus	2 000			
Scopulariopsis brevicaulis	500			
Penicillium cyclopium	50			
Absidia corymbifera	50			
Cladosporium cladosporioides	50			
Candida albicans	50			
<b>Métaux **</b>				
Ni (µg/kg) Seuil : 3,9 µg/kg		< seuil	< seuil	< seuil
Cd (µg/kg) Seuil : 3,1 µg/kg		< seuil	< seuil	< seuil
Pb (µg/kg) Seuil : 2,2 µg/kg		< seuil	< seuil	< seuil
As (µg/kg) Seuil : 1 µg/kg		< seuil	< seuil	< seuil
Hg (µg/kg) Seuil : 3,9 µg/kg		< seuil	< seuil	< seuil
Organochlorés -Organophosphorés		Non détectés	Non détectés	Non détectés

**Tableau 6 : Résultats des analyses du 18/02/93, réalisée sur du PX en semoule et des échantillons des campagnes 1996-1997 et 1997-1998.**

\* Institut Européen de l'Environnement de Bordeaux, 1993).

\*\* Laboratoire d'hygiène et de Recherche en santé Publique de Nancy

## V INTERETS EN ALIMENTATION HUMAINE

La FAO a longtemps cherché à définir des critères pour quantifier la malnutrition. Dans les années 1970, elle mettait l'accent sur le déficit protéique. Depuis, elle définit la malnutrition (ou sous alimentation chronique) sous le seul angle du déficit énergétique quand le seuil est inférieur à une moyenne annuelle ingérée de 2 200 calories par jour. 780 millions d'individus sont concernés, dont 195 millions d'enfants de moins de 5 ans (FAO/OMS, 1992). Cependant, cette méthode a l'inconvénient de ne pas prendre en compte les déficits en protéines et les carences en vitamines et minéraux, les principales étant les carences en fer, vitamine A, iode et calcium. Or certaines populations à faibles revenus, satisfaisant au critère des 2 200 calories, souffrent de carences en nutriments. Cela représente une population beaucoup plus importante que celle estimée par la FAO : plus de 2 milliards d'individus concernés par ces deux formes de malnutrition calorique et carencielle.

La malnutrition carencielle peut provoquer de graves problèmes de santé, principalement chez les enfants : insuffisances pondérales, retards de croissance, déficiences mentales, affaiblissements des résistances immunitaires, parfois mort. C'est, en fait, dans les cinq premières années de la vie de l'enfant que ces conséquences sont les plus dramatiques : le corps et surtout le système neurologique sont en période de croissance rapide et nécessitent impérativement la présence de l'ensemble des nutriments pour leur développement.

### Intérêts des extraits foliaires :

**L'utilisation des extraits foliaires peut être une réponse à ce déficit.** Dès 1960, les chercheurs anglais **Waterlow et Pirie** ont émis cette idée en utilisant, dans les pays en développement, divers extraits foliaires issus de végétaux locaux à feuilles vertes. En fait, après les découvertes de **Rouelle** en 1873 sur les protéines végétales, il a fallu attendre les travaux de **Osborn et Wakeman** (1920) repris par **Pirie** en 1940 pour la mise au point du procédé de précipitation et de séparation d'extraits protéiques tirés d'un végétal. Et c'est **Guha** en 1943 qui l'appliqua pour la première fois au Bengale pendant une famine, en utilisant des graminées et des jacinthes d'eau.

## V 1 Associations de lutte contre la malnutrition

Lutter contre la malnutrition constitue un problème sociopolitique et économique quasiment insurmontable : les besoins sont considérables, les coûts très élevés et les crédits disponibles insuffisants. La solution ne pourra résider que dans l'autosuffisance alimentaire. Deux associations, l'une anglaise (Leaf For Life) et l'autre française (APEF) défendent cette idée d'autosuffisance, au travers des extraits foliaires de végétaux très divers disponibles dans le monde, avec pour objectif la lutte contre les déficits protéiques, vitaminiques et minéraux.

### V 1.1 Leaf for Life (LFL)

En 1967, des bénévoles anglais décident de soutenir les professeurs **Pirie et Waterlow** dans leurs recherches sur le “**Leaf Concentrate**” et créent sous le nom de **Find Your Feet**, l’association humanitaire et caritative connue en France sous l’appellation **Leaf for Life**.

Depuis cette date, Find Your Feet a accompagné et financé les essais des chercheurs anglais et indiens qui ont permis de mettre au point la méthode artisanale utilisant des procédés techniques très simples adaptés aux climats et aux cultures régionales. Ils promouvent également ces ateliers artisanaux dans de nombreux pays, tels que le Mexique, le Sri Lanka, l’Inde, le Bangladesh et plus tard la Bolivie, le Nicaragua.

## V 1.2 Association pour la Promotion des Extraits Foliaires en nutrition (APEF)

C’est dans cette même optique, mais en s’appuyant sur la méthode industrielle, que l’Association française pour la Promotion des Extraits Foliaires en nutrition fut créée en 1993 à l’initiative de Mr Jacques **Subtil** (Président), Mme Irène **Gastineau**, Mr Roger **Douillard**, Mr Olivier **de Mathan** et Mr Jean-Marie **Mojon**.

Associée à de nombreuses personnalités du milieu médical et agricole (Annexe 1), l’APEF réalise des études et des essais de supplémentation des rations carencées dans différents pays en employant les extraits foliaires de luzerne fabriqués en France. Ses trois principales actions à l’heure actuelle, se situent :

- En **Roumanie** (essais mis en place depuis juillet 1994 avec l’aide de l’Ordre de Malte et l’appui du professeur Atanasiu, pasteurien et expert OMS),
- Au **Nicaragua** où l’association Soynica supplémente, depuis 1995, les rations de plus de 3 000 enfants de moins de 6 ans et des mères enceintes ou allaitantes,
- En **Chine**, depuis 1996, avec l’appui de chercheurs de l’université de Pékin et de l’université de Perouse.

L’association, composée de bénévoles, reçoit les appuis de France Luzerne et des trois usines d’extraction du groupe qui fournissent l’APEF en extraits nécessaires aux essais. Elle est aussi soutenue par l’Ordre de Malte et le Rotary Club mais n’a pas encore obtenu la reconnaissance des institutions officielles telles que la FAO, l’OMS.

## V 2 Méthodologie et résultats

La posologie recommandée par le Professeur J.C. **Dillon** nutritionniste pour l’extrait de luzerne en tant que complément alimentaire est de 10 g par jour pour les enfants de 10 kg et plus. Pour les adultes, les femmes enceintes et les personnes âgées, une dose journalière de 10 à 15 g semble une bonne indication. Il faut cependant savoir qu’au Nicaragua, les extraits de luzerne sont donnés aux nourrissons au sevrage, à 6 mois, mélangés à du miel liquide.

Chez certains sujets, le début des prises d’extrait foliaire de luzerne peut être accompagné de troubles digestifs. Pour cette raison, les doses sont administrées par étapes successives : 2,5 g/j au départ puis 2,5 g supplémentaires par paliers. Les extraits foliaires sont généralement consommés mélangés aux nourritures locales (soupes, galettes, pâtes, gâteaux, boissons, farines de maïs, fromage blanc...). Afin d’éviter la dénaturation des vitamines, ils ne doivent pas être cuits mais ajoutés après cuisson.

Pour un enfant de 10 kg, dix grammes de concentré de luzerne (Tableau 7) permettraient, théoriquement, de couvrir :

- **LA totalité des besoins de l'enfant en vitamine A (sous forme de  $\beta$ -carotène excluant les risques de surdoses de vitamine A)**
- **100 % de ses besoins en fer.**
- **40 % de ses besoins en vitamine E**
- **30 % de ses besoins en calcium.**
- **20 % de ses besoins en protéines.**

<b>Composants (pour 10 g)</b>	<b>Éléments nutritionnels dosés</b>	<b>Valeur en mg*</b>
Protéines (4,9 - 5,3 g)	Lysine	321
	Tryptophane	100
	Thréonine	239
	Cystéine	59
	Méthionine	112
	Valine	308
	Leucine	443
	Isoleucine	242
	Tyrosine	242
	Phénylalanine	250
Lipides (1 g). Parmi ceux qui ont été dosés :	Acide linoléique	332
	Acide linoéique	133
Matières minérales (0,9 - 1,3 g)	P (assimilable)	70
	Ca	320
	K	70
	Fe	7
	Na	0,5
	Mg	13
	Mn	0,6
	Zn	0,2
	Cu	0,078
Vitamines	Beta-carotène	920 $\mu$ g ER
	Vitamine E	3
	Vitamine B9	0,03
	Vitamine K	0,3
	Choline chlorhydrate	6,4

**Tableau 7 : Valeurs quantitatives des éléments nutritionnels de 10 g de concentré de luzerne.**  
\* Données de l'APEF.

### V 2.1 Effets contre l'anémie

L'anémie est l'affection résultant de la malnutrition la plus répandue dans le monde. Elle affecte, dans les pays du Tiers monde, environ 500 millions enfants et 60 % des femmes enceintes (FAO/WHO 1988). Au total, 2 milliards de personnes (principalement les femmes et les enfants en âge préscolaire) sont concernées (FAO/OMS, 1992).

Selon l'OMS, l'anémie est caractérisée par des indices d'hémoglobine inférieurs à 11 g/dl de sang chez les jeunes enfants et à 12 g/dl chez les enfants plus âgés ou chez l'adulte (World Health Organisation, 1972). Les enfants souffrants d'anémie sont également plus petits et plus fragiles (système immunitaire affecté) que les autres. Ils ont un taux de croissance ralenti dû à la malnutrition et aux nombreuses maladies induites (**Chwang et al.**, 1988). Ils sont aussi moins attentifs à l'enseignement et présentent un développement cérébral inférieur aux autres enfants (**Pollitt et al.** 1986).

Dans la plupart des cas, les faibles indices d'hémoglobine observés sont dus à la consommation d'aliments pauvres en fer et en protéines couramment consommés dans les pays en développement. Toutefois, les carences en acide folique, en vitamines A, B2, B6 ou B12 (cas d'anémie pernicieuse), et en cuivre peuvent également être incriminées (**Passmore et Eastwood**, 1986). En fait le faible niveau de vie de ces populations ne leur permet pas d'acheter les produits d'origine animale ni les fruits ou les légumes susceptibles de compenser l'éventail limité des graines en matière d'acides aminés, de vitamines et d'oligo-éléments. Or, comme nous l'avons vu, 10 g d'extrait foliaire de luzerne contiennent en moyenne 7 mg de fer et de nombreux autres nutriments.

\* **Leaf For Life** a ainsi mis en évidence, dans des pays tels que la Bolivie, le Nigeria et le Pakistan, que :

- Une supplémentation des rations alimentaires, en lait ou en extrait foliaire chez des enfants en bas âge entraînait une augmentation significative de leur poids comparé aux valeurs standard de l'OMS. Gain de poids qui serait certainement dû à la diminution constatée des maladies (**Lowe**, Leaf for Life, 1992).

- La distribution de concentré foliaire ou de lait, chaque jour, à des enfants malnutris entraînait une rémission spontanée de l'anémie (**Olatunbosun**, 1972 ; **Shah**, 1981; Leaf For Life). Leur taux d'hémoglobine est en effet augmenté. L'ingestion concomitante de vitamine C renforçait cet effet : l'explication la plus probable à ce phénomène résiderait dans le fait que le fer non hémérique présent dans la luzerne serait mieux absorbé à l'état réduit. L'acide ascorbique favoriserait le maintien du fer dans cet état (**Chanarin**, 1988, Leaf For Life).

\* **L'APEF** a également procédé à différentes expérimentations avec des extraits foliaires produits par France Luzerne :

- Les mêmes effets positifs ont été constatés en Chine chez des étudiants et des individus de 14 à 65 ans (**Peiyu**, 1996, APEF), chez des personnes âgées de 50 à 86 ans en Roumanie (**Zeana**, 1996, APEF), chez des enfants de moins de 2 ans par l'Institut pour la Protection de la Mère et de l'Enfant à Bucarest (**Georgescu et Nanu**, 1997), chez 200 enfants de 6 mois à 6 ans et chez des mères enceintes ou allaitantes supplémentés, pendant 4 mois, avec 10 g/j d'extrait de luzerne au Nicaragua et en Roumanie (**Teran Hidalgo**, 1996, SOYNICA ; **Zeana**, 1996, APEF).

Cependant, la biodisponibilité du fer dans le concentré foliaire n'a pas encore fait l'objet d'une étude. Elle semble toutefois plus élevée que les normes généralement admises pour l'absorption du fer des végétaux.

**On constate, dans tous les contrôles sanguins réalisés à ce jour, que l'association des extraits foliaires aux aliments traditionnels contribue à élever le taux d'hémoglobine dans le sang et à réduire voire supprimer l'anémie.**

## **V 2.2 Effets contre les carences en vitamine A**

Selon l'Unicef (1988), les carences en vitamine A sont responsables, chaque année, de la cécité de plus de 500 000 enfants dont plus de la moitié meurent en l'espace de quelques mois. Il semble également que le manque de vitamine A influence la fréquence des infections diarrhéiques responsables chaque année de la mort de 4 millions d'enfants (**Sommer et al.**, 1984 ; Unicef). Or, dans ces pays les légumes et les fruits sont très onéreux. Les populations n'ont donc pas l'occasion de consommer des produits riches en bêta-carotène ou pro-vitamine A.

Une étude menée, pendant 3 mois sur des jeunes enfants a mis en évidence d'une part que leur indice de rétinol sérique était augmenté et d'autre part, que le taux d'absorption des bêta-carotènes provenant des extraits foliaires (5,5 mg pour 10 g de matière sèche) était de 90 % (**Devadas et Murthy**, 1978, Leaf For Life). Un phénomène identique a été constaté chez des personnes âgées à Bucarest (**Zeana**, 1996 APEF).

Il semble également que la supplémentation régulière en concentré protéique de luzerne permette de diminuer la dégénérescence du tissu conjonctif (**Mathur**, 1996) ainsi que la fréquence, la durée et l'intensité des diarrhées (étude réalisée en 1993 par Leaf for Life au Brésil).

## **V 2.3 Extraits foliaires et développement intellectuel**

Le développement du système neurologique (en particulier le cerveau) de l'enfant s'effectue entre la conception et l'âge de cinq ans. A 2 ans, le poids du cerveau atteint déjà 80 % de celui de l'adulte. Une malnutrition durant cette période peut interrompre la croissance du cerveau et créer des lésions graves et définitives. Toutefois si l'alimentation s'améliore vers trois ans, la croissance peut reprendre. A l'inverse, la malnutrition peut créer des lésions cérébrales graves même après 2 ans. Au delà de 5 ans, les retards de croissance du cerveau ne peuvent plus être rattrapés.

Des études menées au Guatemala sur 2 000 personnes (enfants en bas âge et femmes enceintes) ont montré combien la malnutrition infantile handicape les capacités intellectuelles du futur adulte, sa qualité de vie et sa productivité au travail (**Brown et Pollitt**, 1996) :

- Le taux de mortalité d'enfants nourris avec un complément alimentaire hyperprotéiné (Atole) diminue de 69 % alors que leur vitesse de croissance est augmentée par rapport à un supplément hypercalorique identique mais de nature non protéique.

- Les enfants supplémentés avec Atole ont de meilleurs résultats aux tests intellectuels que les enfants témoins supplémentés avec un mélange riche en énergie à base de sucre et fruits nommé Fresco.

- La supplémentation protéique Atole facilite l'assimilation intellectuelle : plus la scolarité est longue, plus la différence de quotient intellectuel entre les deux groupes d'adolescents est importante.

Au Nicaragua, les jeunes enfants sont traditionnellement sevrés avec des bouillies de farine de maïs et Sonyca supplémente ces rations carencées avec des extraits foliaires. A ce sujet, le regretté Professeur **Lestradet** (pédiatre nutritionniste, membre de l'Académie de Médecine) soulignait que : “le développement du système neurologique est conditionné par la présence, dans l'alimentation, de fer et d'acides aminés (tryptophane notamment) en quantité suffisante. Les grains qui constituent souvent la seule ressource alimentaire sont peu pourvus en ces éléments. Les enfants au sevrage et dans leurs premières années risquent de ce fait un handicap intellectuel irréversible. Les extraits foliaires sont susceptibles de corriger les insuffisances nutritionnelles liées à la consommation de grains grâce précisément à leur grande richesse en tryptophane et en fer”.

#### **V 2.4 Acceptabilité**

Les extraits foliaires possèdent la couleur verte foncée des feuilles de luzerne. Ils ont l'odeur d'herbe coupée et la saveur particulière de l'épinard. Ces trois facteurs peuvent constituer un handicap à la consommation principalement par les enfants même si la dose journalière est faible (6 à 10 g/jour). En Afrique, les traditions culinaires locales facilitent l'acceptabilité puisque les plats sont très souvent assaisonnés avec des feuilles séchées. Ailleurs, l'APEF laisse aux responsables locaux l'initiative de la présentation des extraits foliaires :

- En Roumanie : mélange avec des bouillies de riz, fromage blanc et sucre,
- Au Nicaragua : mélange avec de la farine de maïs et du sucre ou avec du miel liquide pour les nourrissons,
- En Chine : mélange avec de la farine de soja.

Tous ces programmes alimentaires nécessitent l'adhésion totale des responsables locaux et en particulier des médecins et du personnel de santé. La consommation d'un produit nouveau doit, en effet, faire l'objet d'une approche psychologique et technique très attentive sous peine d'échec.

#### **V 2.5 Effets indésirables relatifs**

Seuls trois cas de réactions allergiques aux extraits foliaires, produits par thermocoagulation à 80-85 °C dans la méthode artisanale, ont été signalés en 1962 et 1971 (**Waterlow**, 1962 ; **Singh**, 1971). Depuis, aucune réaction secondaire n'a été détectée chez les enfants ou adultes consommant ces extraits grâce à la modification du processus de fabrication. Celui-ci consiste maintenant à chauffer le jus vert jusqu'à ébullition, ce qui permet de détruire à la fois la phéophorbide et les bactéries susceptibles d'être pathogènes.

Le risque de chauffage insuffisant n'existe pas en fabrication industrielle. A ce jour, près de 50 tonnes d'extraits foliaires (représentant plus de 5 millions de rations journalières) ont été consommées. Aucun problème d'intolérance ou d'ordre digestif n'a été signalé, sous réserve de la progressivité des apports en début de supplémentation. Seuls quelques individus ont présenté des problèmes digestifs mineurs durant cette phase, corrigés par une période d'accommodation un peu plus longue.

## VI ANALYSE ET COMMENTAIRES

### VI 1 Le bilan

Les nombreuses études réalisées par les associations Leaf For Life et APEF sur des enfants, des mères et des personnes âgées sous alimentés ont jusqu'à ce jour montré que l'extrait foliaire, de par sa grande richesse en protéines, en acides aminés (notamment la lysine et le tryptophane), en vitamines, et en oligo-éléments (notamment fer et calcium) apportait un certain nombre d'effets bénéfiques :

- \* Il favorise la croissance et le gain pondéral
- \* Il permet d'accroître le taux d'hémoglobine et réduit, voire élimine l'anémie
- \* Il augmente les valeurs du rétinol sérique et de ce fait préviendrait les maladies liées à une carence en vitamine A
- \* Il favoriserait le développement normal du cerveau des enfants
- \* Il améliore l'état de santé général et réduit la fréquence et la gravité des maladies.
- \* Il ne cause aucun problème d'intolérance lié à une consommation à long terme.

L'extrait foliaire de luzerne peut donc représenter un supplément nutritif des rations à base de céréales, très bénéfique pour la santé humaine dans les pays en développement. Il permettrait d'améliorer le développement physique et intellectuel des jeunes enfants et par conséquent, la qualité de vie et la productivité futures de ces populations. Son procédé de fabrication très simple est peu coûteux (environ 30 F par enfant et par an). Les ressources foliaires sont énormes (plus que celle des grains), renouvelables et inépuisables. **L'utilisation des extraits foliaires de luzerne nous laisse donc entrevoir l'espérance que les populations économiquement démunies deviendraient capables de se prendre en charge** en fabriquant elles-mêmes des extraits foliaires à partir de feuilles de végétaux verts locaux tout en utilisant le co-produit du pressage (résidus fibreux et sérum) pour le développement de petits élevages.

**Leaf For Life** a constitué une importante bibliographie sur les résultats très encourageants obtenus avec les extraits foliaires d'origine artisanale, principalement dans la supplémentation des rations des enfants.

Avec un concentré industriel dont la qualité contrôlée offre une sécurité de fabrication et de conservation bien plus élevée, **l'APEF a confirmé l'efficacité des extraits foliaires chez les enfants de 6 mois à 6 ans et les mères au Nicaragua, chez les adultes en Chine et chez les personnes âgées en Roumanie.**

Dans les pays développés, le concentré de luzerne pourrait permettre de lutter contre la malnutrition liée à une déstructuration familiale et contre une altération de l'état général (fatigue persistante, surmenage physique et mental, période de convalescence...) due au déséquilibre de l'alimentation moderne. Tous ces états ont en commun un excès de radicaux libres par hyperoxydation et acidification du milieu intérieur. Or l'extrait foliaire est riche en antioxydants (vitamines A et E, flavonoïdes, sélénium, zinc, cuivre).

**Les extraits foliaires, en tant que compléments nutritionnels, seraient donc susceptibles de contribuer à l'amélioration de la santé des malnutris et des populations pauvres en rétablissant leur équilibre alimentaire. Introduits diversement dans l'alimentation, ils pourraient également être précieux dans les pays industrialisés en tant que facteurs stimulants et équilibrants.**



## VI 2 Perspectives et stratégie de développement

### VI 2.1 Les extraits foliaires, étude nutritionnelle

Deux étapes ont été prévues par l'APEF pour étudier les extraits foliaires sous leurs aspects nutritionnels en alimentation humaine :

#### ① Confirmer l'efficacité des extraits foliaires

- Comparaison des résultats par rapport à ceux obtenus par l'association Leaf for life
- Présentation aux milieux scientifiques
- Observation des résultats

Comme nous l'avons vu précédemment, cette phase est aujourd'hui terminée puisque les essais comparatifs réalisés à ce jour (10 environ) ont tous démontré l'efficacité des extraits foliaires contre l'anémie (le taux d'hémoglobine sanguin ayant été le seul critère retenu pour cette étape).

#### ② Valider scientifiquement l'intérêt des extraits foliaires en nutrition

**La phase suivante sera la validation scientifique des extraits foliaires.** Elle va prochainement commencer par l'étude, au CHU de Reims sous la direction des professeurs J.C. Etienne, S. Kochmann, M. Leutenegger, H. Choisy, P. Bouchet et du Dr Kariger, de la biodisponibilité chez l'homme sain de trois éléments importants : la protéine, le fer et le calcium.

Deux projets se mettent également en place au Mali (à l'initiative du Ministère de la Santé et avec l'appui de l'Ordre de Malte) et au Mexique (avec l'association Franco Mexicana suiza y Belga de Beneficiencia de Mexico). Le programme est, dans tous les cas le même :

- Une organisation s'intéresse aux extraits foliaires et souhaite en étudier les effets sur une population malnutrie dans un but de développement local à moyen terme.
- L'APEF lui propose un plan de collaboration et fournit gratuitement les concentrés foliaires nécessaires (hors transports) ainsi que les indications sur le produit et son emploi.
- L'organisation conduit, sous sa responsabilité, avec ses nutritionnistes et ses médecins, un essai de supplémentation de plusieurs mois sur un groupe de nourrissons, d'enfants, de mères et/ou de personnes âgées).
- Le contrôle est simple : bilan général de santé pour chaque individu, mesure de l'hémoglobine avant et après l'essai, observation des maladies durant celui-ci (type, fréquence, durée), principalement pour les diarrhées, les troubles respiratoires ou les troubles de la vue.

Normalement, au terme de l'expérimentation, les améliorations constatées doivent entraîner l'adhésion des responsables pour un programme complémentaire allant vers l'auto production à partir des végétaux verts locaux adaptés aux conditions agricoles et climatiques du pays.

### VI 2.2 Les extraits foliaires dans les pays en développement

La solution pour éradiquer la malnutrition ne peut s'appuyer durablement sur l'importation de nourriture. **Elle passe nécessairement par l'autosuffisance alimentaire de chaque grande zone de consommation.**

Aussi, pour réussir le développement des extraits foliaires, il faut, qu'à terme, l'autoproduction soit mise en place au plus près des besoins et des bassins de vie. Deux méthodes sont envisageables :

### ① La méthode artisanale

Cette méthode est particulièrement indiquée pour les villages où la végétation est normale et où la culture de luzerne ou de végétaux verts est possible, car elle s'adapte bien au milieu socio-économique : - C'est un facteur d'activité : l'atelier artisanal nécessite 3 personnes ; des agriculteurs cultiveront le végétal,

- Une forme coopérative peut être adoptée,
- Le matériel, très simple, peut être fabriqué dans le pays,
- Le co-produit est utilisé par les animaux (il est particulièrement adapté aux lapins),
- La production d'extraits foliaires (sous forme pâteuse ou sèche) est faible (4 à 5 kg/jour de matière sèche). Cependant, elle permet la supplémentation de 400 à 500 rations.

L'activité générée permet la création d'un micro-système économique : les champs, la récolte, l'atelier, la vente, avec un schéma où chaque acteur peut trouver sa rétribution donc sa motivation.

### ② La méthode industrielle

Pour solutionner l'approvisionnement des grands bassins de vie et des régions sèches qui nécessitent des quantités d'extraits foliaires plus importantes, il faut installer des petites usines au centre de terres fertiles et irriguées. Le schéma est le suivant :

- Une zone d'approvisionnement organisée avec les agriculteurs (éventuellement en coopérative)
- Une petite usine d'extraction de type simplifiée, robuste et facile à exploiter, produisant l'extrait sec (déjà mélangé ou non à des farines ou produits locaux sous forme d'aliments prêts à l'emploi) ainsi que le co-produit fibreux susceptible de rentrer dans des formules d'aliments du bétail.

On a ainsi un petit ensemble industriel, créateur de nombreux emplois, assurant l'autosuffisance régionale d'aliments à base d'extraits foliaires avec, en parallèle, une petite industrie de l'alimentation animale susceptible de dynamiser les élevages locaux.

## VI 2.3 Production d'extraits foliaires en France

Le développement de la consommation des extraits foliaires ne se fera pas sans le soutien et l'accompagnement des pays développés et en particulier de la France. On ne pourra se passer avant longtemps d'un apport extérieur important d'extraits foliaires pour lancer la consommation ou subvenir à des besoins locaux. Il existe 3 cas où la production française est indispensable.

### ① Promotion des extraits foliaires puis développement de la consommation

Pour être admis, les extraits foliaires doivent faire la preuve de leur capacité à réduire ou à supprimer les séquelles de la malnutrition. Il faut commencer par convaincre le corps médical et particulièrement le personnel de santé chargé des programmes de supplémentation, mais aussi les décideurs politiques et économiques. Le meilleur moyen d'emporter cette conviction est d'en faire la démonstration par des essais nutritionnellement et médicalement contrôlés ainsi que par des distributions de vulgarisation dans des cantines, orphelinats, etc.

Il peut s'écouler plusieurs années entre cette phase de persuasion entretenue avec les extraits foliaires produits en France et la situation d'autosuffisance.

## **② Les interventions d'urgence**

Dans les cas de guerre, de troubles politiques, de sécheresses, de mauvaises récoltes, la communauté internationale et les ONG (Organisations Non Gouvernementales) interviennent en général avec des céréales prises sur les volumes disponibles dans le monde. Les extraits foliaires constituent un excellent complément des grains. Ils sont facilement transportables et stockables. On peut imaginer la création d'un stock d'extraits foliaires pour les interventions d'urgence, dans l'attente d'une solution normalisée.

## **③ Les interventions palliatives**

Il y a des régions où, pour des raisons diverses (inorganisation du pays, très grande pauvreté, conditions climatiques extrêmes), l'autosuffisance est impossible avant des dizaines d'années, alors qu'il existe des millions d'individus carencés. Une intervention quasi permanente y serait indispensable.

Actuellement, seules 3 usines du groupe France Luzerne produisent des extraits foliaires dans le monde : 12 000 Tonnes par an réservées à l'alimentation animale. Dans l'hypothèse où toutes les usines du parc actuel de la déshydratation française se trouveraient équipées, la capacité serait portée à 100 000 T d'extraits foliaires environ. Ce tonnage couvrirait les besoins de 30 millions d'individus (à raison de 2,5 à 3,5 kg par individu et par an). Or, il existe au moins 2 milliards d'individus carencés dans le monde.

## **④ Perspectives pour l'industrie française**

On peut imaginer que la valeur ajoutée apportée par la production d'extraits foliaires pourrait inciter de nouvelles créations d'usines, alors que la déshydratation classique actuelle en France est inquiète et s'interroge sur son avenir.

En ce qui concerne l'installation d'usines dans les pays en développement, la France pourrait jouer un rôle important puisque seul France Luzerne exploite actuellement ce procédé dans le monde. Cette société pourrait apporter son savoir-faire, ses techniques et ses connaissances dans l'ingénierie des usines à créer. Des participations financières pourraient aussi être envisagées et constituer des alliances avec les capitaux locaux.

Enfin, il est imaginable que les extraits foliaires aient des perspectives intéressantes dans les pays développés en s'introduisant dans le marché en forte croissance des compléments nutritionnels ou en nutrithérapie.

## EPILOGUE

*En hommage au Professeur Henri LESTRADET, ardent défenseur du projet, nous citerons l'article concernant les extraits foliaires en nutrition qu'il avait rédigé en février 1996 et qui s'applique parfaitement comme conclusion de cet ouvrage.*

“Plus de la moitié de la population mondiale voit sa santé, et même sa survie, menacée par trois grandes carences nutritionnelles :

- La carence en protéines, associée ou non à une carence calorique, à l'origine de troubles de la croissance et de l'immunité.

- La carence en vitamine A qui affecte plus de dix millions d'enfants, cause de la moitié des cécités dans le monde. L'hypovitaminose A a été définie par l'OMS, après la dénutrition calorique ou azotée, comme le deuxième objectif prioritaire.

- La carence en fer, plus répandue encore, puisque d'après l'UNICEF un demi milliard d'enfants souffrent d'anémie chronique, avec son cortège de troubles immunitaires et de déficits de la croissance, mais également, hélas, de retards intellectuels.

Depuis des décennies, un programme de lutte contre ces trois carences a été mis en place par l'OMS. Mais la demande est considérable, les coûts en sont exorbitants. L'aide, qui ne peut venir que des pays nantis sera, de toute façon, insuffisante pour satisfaire la totalité des besoins. D'ailleurs, ce n'est là qu'un palliatif car la solution, à terme, réside, bien entendu, dans **l'autosuffisance alimentaire.**

Or depuis plusieurs années, des chercheurs anglais ont exploré une voie originale de production de protéines, de vitamine A, de fer et également de calcium. Ceci à partir d'une source végétale, aujourd'hui encore inexploitée, mais présente en quantité énorme, du moins là où la pluviosité est suffisante, à savoir les feuilles des végétaux dont l'homme n'a pas encore su tirer un parti suffisant.

C'est, en effet, à la condition de subir une extraction les débarrassant de leur enveloppe cellulosique que les protéines, la vitamine A, le fer (auxquels il faut ajouter le calcium, le magnésium et l'acide folique) deviennent alors facilement assimilables par l'organisme humain. Or cette extraction indispensable peut, certes, être effectuée de façon industrielle avec un coût relativement bas, mais elle peut également relever d'un procédé de fabrication artisanal facile, au moins en théorie, à mettre en place.

Des études préliminaires ont été effectuées avec des résultats qui paraissent intéressants. Celles-ci doivent être, bien entendu, poursuivies sur un plan scientifique, en s'attachant aux problèmes de l'acceptabilité de ces produits foliaires, industriels ou artisanaux et en tenant compte des habitudes culinaires et culturelles des populations, tout spécialement des enfants.

En tout cas maintenant que la technologie est au point et que les premiers résultats sont prometteurs, il apparaît urgent de réaliser une recherche appliquée bien structurée, conduite avec méthode et détermination, mais également avec enthousiasme car l'enjeu nutritionnel est considérable”.

**Professeur Henri LESTRADET**

*Ancien membre de l'Académie Nationale de Médecine,*

*Ancien président de la Société Française de Nutrition.*

## ANNEXE 1

**Personnalités du milieu médical et/ou scientifique qui apportent leur concours  
au projet des extraits foliaires**

***En hommage au***

Pr. Henri LESTRADET                      Ardent défenseur du projet, mort en juillet 1997  
Ancien membre de l'Académie Nationale de Médecine  
Ancien président de la Société Française de Nutrition

***Conseillers scientifiques de l'association***

Pr. Julien COLEOU                      Membre de l'Académie d'Agriculture  
Institut National Agronomique PARIS-GRIGNON

Pr. Jean-Claude DILLON                Ancien directeur de l'ORSTOM nutrition - DAKAR  
Professeur de nutrition à l'Institut des Cordeliers de Paris

Dr Christian RECCHIA                    Médecin nutritionniste  
Président du Centre d'Etudes et de Prospectives sur les  
vulnérabilités humaines

***Centre hospitalier universitaire de Reims***

Pr. Jean-Claude ETIENNE                Président de la CME du CHU  
Député de la Marne  
Vice-président du Conseil Régional

Pr. Serge KOCHMANN                    Ancien doyen de la Faculté de médecine  
Conseiller général - Adjoint au Maire de Reims

***Membres du comité de pilotage du projet extraits foliaires au CHU***

Pr. Marc LEUTENEGGER                Chef du service Diabétologie - Nutrition  
Coordinateur du comité de pilotage

Pr. Henri CHOISY                        Directeur du laboratoire de Pharmaco-Toxicologie

Pr. Philippe BOUCHET                    Laboratoire de Botanique -Faculté de Pharmacie

Dr. Eric KARIGER                        Santé publique - Chef du projet "Extraits Foliaires"

***ROUMANIE (groupe d'expérimentation)***

Pr. Corneliu ZEANA	Chef du service Cardiologie à l'hôpital d'urgence de Bucarest
Pr. Targoviste IONESCU	Chef du service Diabétologie
Dr. Gabriela ZEANA	Chef de service à la recherche des médecines industrielles

***NICARAGUA (Commission scientifique de SOYNICA)***

Pr. Josefina BONILLA	Santé publique - Faculté de Médecine Managua
Dr. Petronila TERAN	Pédiatre - Nutritionniste Responsable médicale du projet SOYNICA

***CHINE (Université Agricole de Chine à Pékin)***

Pr. Peiyu GUO	Président de "Chinese Leaf Protein Preparatory Association" Ancien vice-président de l'Université agricole de Pékin
Pr. Lujia HAN	Chef de l'Institut des Aliments non conventionnels
Pr. Xiangyang LIU	Institut des Aliments non conventionnels
Pr. Yong DENG	Sciences Alimentaires

***ITALIE (Université de Pérouse, Perugia)***

Pr. Paolo FANTOZZI	Directeur de l'Institut des Industries Agricoles de l'Université de Pérouse Chaire de Technologie Alimentaire
Dr. Luigi MONTANARI	Biotechnologue (L'université de Pérouse collabore avec l'association sur le projet "CHINE").

## ANNEXE 2

### METHODES DE DOSAGE des composés nutritionnels et toxiques

Dosages	Méthodes de référence
Humidité	2 <sup>ème</sup> Directive CEE 71/393
Protéines Dumas	AFNOR V18-120 (Mars 1997)
Protéines Kjeldahl	Directive CEE 93/28
Fibres (Cellulose)	Méthode Weende (norme AFNOR V03-040 et 4 <sup>ème</sup> directive CEE)
Matières Minérales - Cendres brutes	Norme AFNOR NF V18-101
Matières grasses	2 <sup>ème</sup> Directive CEE, procédé A
Carotène	Méthode de base AOAC 1980-43.018 modifiée
Carotène - Xanthophylles	Méthode recommandée BIPEA n° AC 81.M 85.10
Vitamine A et vitamine E	Norme AFNOR NF V18-402 (1997)
Acides aminés	Norme AFNOR NF V18-113 (sauf tryptophane) Norme AFNOR V18-114 (dosage du tryptophane)
Minéraux	2 <sup>ème</sup> Directive CEE et NF V18-106 (Phosphore) NF V18-108 (Calcium) 8 <sup>ème</sup> Directive CEE (Cuivre, Manganèse, Zinc et Fer) 4 <sup>ème</sup> Directive CEE (Magnésium) 1 <sup>ère</sup> Directive CEE (Sodium)
Aflatoxines	Méthode AOAC modifiée par HPLC
Bactériologie	NF ISO 4833, Juillet 1991 (Dénombrement de micro-organismes) NF V08-017, Juin 1980 (Coliformes fécaux et E. coli) NF V08-019, Décembre 1985 (Clostridium perfringens) NF V08-014, Janvier 1984 (Staphylococcus aureus) NF ISO 6579 (Salmonella)
Métaux lourds	Méthode interne au laboratoire d'Hygiène et de Recherche en Santé Publique - Faculté de Médecine - Nancy Minéralisation par voie humide dans HNO <sub>3</sub> et /ou H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Dosage par ICP - Masse
Pesticides	Méthode interne au laboratoire d'Hygiène et de Recherche en Santé Publique - Faculté de Médecine - Nancy Dosage des pesticides organochlorés par CPG/ECD Dosage des pesticides organophosphorés par CPG/NPD

## ANNEXE 3

### **Abely M., 1995**

Rapport bibliographique : Intérêts nutritionnels des extraits foliaires dans l'alimentation humaine. Protéines foliaires. Complément nutritionnel chez l'enfant. Centre Hospitalier Universitaire de Reims.

### **Bourdon D., Perez J.M., Henry, Y. et Calmes R., 1980**

Valeur énergétique et azotée d'un concentré de protéines de luzerne, le "PX<sub>1</sub>" et utilisation par le porc en croissance-finition. Journées Rech. Porcine en France, 227-244.

### **Brown L. et Pollitt E., 1996**

Malnutrition, pauvreté et développement intellectuel. Pour la science, 223, 90-94.

### **Carr J.R. et Pearson G., 1974**

Nutritive value of lucerne leaf-protein concentrate and lupin seed-meal as protein supplements to barley diets for growing pigs. Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod., 34, 95

### **Chanarin I., 1988**

Anemias and coagulation disorders of nutritional origin. In : Nutrition in the clinical management of disease (2nd Ed). Dickerson, Hodder et Stoughton Eds, Londres, pp 281.

### **Chwang L.C., Soemantri A.G. et Pollitt E., 1988**

Iron supplementation and physical growth of rural Indonesian children. Am. J. Clin. Nutr., 47, 496-501.

### **CNRS - CNERVA, 1992**

Apports nutritionnels conseillés pour la population française

### **Devadas R.P. et Murthy N.K., 1978**

Biological utilisation of  $\beta$ -carotene from Amaranth and leaf protein in preschool children. Worl Review of Nutrition and Dietetics, 31, 159-161.

### **Douillard R., 1981**

Composés lipidiques accompagnant les protéines foliaires. C. Protéines foliaires et alimentation. In : Gauthier - Villars ed. Costes, Paris, 69-91.

### **FAO/OMS, 1992**

CIN - FAO - OMS

### **FAO/WHO, 1988**

Requirements of vitamine A, folate, iron and B12. FAO, Rome, Report number 23.



**Gastineau I. et de Mathan O., 1981**

La préparation industrielle de la protéine verte de luzerne.  
C. Protéines foliaires en alimentation.  
In : Gauthier-Villars ed. Costes, Paris, 159-182.

**Georgescu et Nanu, 1997**

Rapport IOMC n° 262, Janv. 97

**Guha B.C., 1960**

Leaf proteins as human food  
The Lancet, 1726, 704-705.

**Le Goff L., 1997**

Encyclopédie de l'alimentation biologique et de l'équilibre nutritionnel.  
Nourrir la vie.  
Ed Roger Jollois.

**Lowe C.A., 1992**

L'effet d'une supplémentation d'extraits foliaires sur les taux d'hémoglobine chez les enfants malnutris en Bolivie : une étude pilote.  
Rapport de Leaf for Life.

**Mathur B., 1996**

Jaipur anganwadi feeding programme with leaf concentrate (1993-96).  
Find your Feet in collaboration with the Society for the Development of Appropriate Technology (SOTEC, Bareilly), Project Report, p 94.

**Mauriès M., 1994**

La luzerne aujourd'hui.  
Ed France Agricole, pp 17 - 131.

**Muller J.C., Denys D., Monbrun M.D. et Labre D., 1989**

La luzerne en Champagne crayeuse.  
Incidence de la culture sur l'environnement : éléments de réflexion.  
Rapport de l'INRA, Travaux de la station publication n° 168.

**Myer R.O et Cheeke P.R., 1975**

Alfalfa meal and Alfalfa protein concentrate by rats.  
J. Animal Sci., 40, 500-508.

**Olatunbosun D.A., Adadevoh B.K. et Oke O.L., 1972**

Leaf protein A new source for the management of protein calorie malnutrition in Nigeria.  
Nigeria Med. J., 2, 195-199.

**Passmore R. et Eastwood M.A., 1986**

In : Davidson and Passmore "Human nutrition and dietetics" Churchill, Livingstone, Edinburgh.

**Peiyu G., 1996**

Second report on leaf protein nutrition trails in China.  
Chinese preparatory association of leaf protein.

**Pirie, 1940**

Leaf concentrate - Some history  
Find Your Feet LTD, 1990.

**Pollitt E., Saco-pollitt C., Leibel R.L. et Vitieri F.E., 1986**

Iron deficiency and behavioural developments in infants and preschool children.  
Am. J. Clin. Nutr., **43**, 555-565.

**Shat F.H., Salam Sheikh A., Farruckh N. et Rasool A., 1981**

A comparison of leaf protein concentrate fortified dishes and milk as supplements for children with nutritionally inadequate diets, Qual. Plant.  
Plants Foods Hum. Nutr., **30**, 245-258.

**Singh N., 1971**

Feeding trials with children.  
Its agronomy, preparation, quality and use.  
In : Pirie NW ed. Leaf Protein, Oxford, 131-134.

**Sommer A., Katz J. et Tarwotjo I., 1984**

Increased risk of respiratory disease and diarrhoea in children with pre-existing mild vitamin A deficiency.  
Am. J. Clin. Nutr., **40**, 1090-1095.

**Teran Hidalgo P., 1996**

Utilisation de l'extrait foliaire concentré dans le traitement de l'anémie chez les femmes et les enfants de quatre centres d'alimentation à Managua : une expérience communautaire.  
Rapport de l'association SONYCA.

**Osborn et Wakeman 1920**

Leaf concentrate - Some history  
Find Your Feet LTD, 1990.

**Waterlow, J.C., 1962**

The absorption and retention of nitrogen from leaf protein by infants recovering from malnutrition.  
Brit. J. Nutr., **16**, 531-540.

**Zeana, C., Bogdan C. et Olaru D., 1996**

Foliary Alfalfa extract as nutritive adjuvant for elderly.  
IIIrd Congress of the International Association of Gerontology European Region. Clinical section.